



UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE APLICATĂ ȘI
ȘTIINȚA MATERIALELOR

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

*SISTEME CU ELIBERARE ȘI VECTORIZARE DE PRINCIPII
BIOLOGIC ACTIVE*

*DELIVERY AND VECTORIZATION SYSTEMS OF BIOLOGICAL
ACTIVE PRINCIPLES*

Autor: Ing. Oana Cristina Duță

Conducător de doctorat: Prof.Dr.Ing.Ecaterina Andronescu

Comisia de doctorat

Președinte	Prof.dr.ing. Adelina Ianculescu	de la	Universitatea Politehnica din București
Conducător de doctorat	Prof.dr.ing. Ecaterina Andronescu	de la	Universitatea Politehnica din București
Referent	Prof.dr. Carmen Limban	de la	Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București
Referent	Prof.dr. Carmen Chifiriuc	de la	Universitatea București
Referent	Prof.dr.ing. Anton Fikai	de la	Universitatea Politehnica din București

Mulțumiri

Fundamentarea științifică și elaborarea acestei teze de doctorat nu ar fi fost posibilă fără ajutorul, sprijinul și îndrumarea unor oameni deosebiți care au contribuit la formarea mea ca cercetător, însuflându-mi curajul de a merge mai departe.

Multe mulțumiri și deosebită recunoștință conducătorului științific, **Dna. Prof. Dr. Ing. Ecaterina Andronescu** și comisiei de îndrumare formate din **DI Prof. Dr. Ing. Anton Fikai**, **Dna Conf. Dr. Ing. Denisa Fikai** și **Dnei Prof. Dr. Carmen Limban** pentru încrederea acordată, pentru îndrumarea științifică, răbdarea, profesionalismul, sprijinul și înțelegerea deplină de care au dat dovadă pe parcursul întregului stagiul doctoral, contribuind astfel la formarea mea profesională și ca om.

Mulțumesc pentru colaborarea deschisă și pentru efortul depus pe tot parcursul activității de cercetare celor care m-au ajutat în caracterizarea suprafețelor materialelor prezentate în cadrul tezei de doctorat, respectiv, **DI Dr. Chim. Dragoș Gudovan**, **Dna Cercetător Științific Roxana Trușcă**, **Dna Cercetător Științific II Elena Grosu**, **Dna Assoc. Prof. Lia Mara Dițu**, **Dna Prof. Dr. Mariana Carmen Chifiriuc**, **Dra Drd. Ing. Cornelia Ilie**.

Mulțumesc colaboratorilor din cadrul proiectului *“Titanium Oxynitride Coatings for the Improvement of Biocompatibility and Long-Term Functionality of Cardiovascular Stents: Development of Novel Deposition Technology” (TiOxTech-Bio) 01DJ15023 in the frame of Era.Net.Rus.Plus call.* pentru includerea în această activitate de cercetare și pentru șansa acordată de a studia un tip de dispozitive medicale foarte utile în tratarea unor boli cardiovasculare grave.

Mulțumesc tuturor colegilor din cadrul Universității Politehnica din București, Departamentul de Știința și Ingineria Materialelor Oxidice și Nanomaterialelor, dar și tuturor colectivelor cu care am avut onoarea de a colabora.

Profund respect, deosebită recunoștință și alese mulțumiri **DI Ing. Ioan Gârbea** și companiei Microsin S.R.L. pentru sprijinul, încrederea și înțelegerea acordate pe întreaga perioadă de cercetare științifică în cadrul activității doctorale.

În mod deosebit vreau să mulțumesc familiei mele și viitorului meu soț, **Ing. Maxim Maximov**, pentru dragostea necondiționată, sprijinul moral și financiar, înțelegerea și încurajările oferite permanent pe tot parcursul acestor ani. Fără susținerea și încurajările lor nu aș fi reușit.

Mulțumesc tuturor prietenilor pentru sprijinul și încurajările oferite pe parcursul acestor ani, care m-au făcut să depășesc mai ușor momentele dificile.

În încheiere aș vrea să îl menționez din nou pe **DI Prof. Dr. Ing. Anton Fikai** și să îmi exprim întreaga mea recunoștință, profund respect și alese mulțumiri pentru sprijinul permanent, ajutorul, îndrumarea constantă, sfaturile și ideile oferite cu generozitate, dar și pentru colaborarea deschisă și pentru efortul depus pe parcursul activității de cercetare în vederea finalizării tezei.

Dedic această teză bunicilor mei.

Cuprins

I. OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE ACTIVITĂȚII DE CERCETARE DOCTORALĂ.....	8
II. INTRODUCERE.....	10
II.1. CATETERELE.....	12
II.2. POLICLORURA DE VINIL.....	18
II.3.1. Modificarea suprafeței policlorurii de vinil.....	19
II.3.1.1. <i>Tratamentul în plasmă</i>	21
II.3.1.2. <i>Încorporarea de argint pe suprafață</i>	24
II.3.1.3. <i>Modificare chimică</i>	26
II.3.1.4. <i>Grefarea indusă de radiație</i>	29
II.3. SISTEME CU ELIBERARE CONTROLATĂ DE PRINCIPII ACTIVE.....	32
II.3.1. Tipuri de sisteme cu eliberare controlată	34
II.3.1.1. <i>Sisteme cu eliberare controlată la un moment dat în timpul tratamentului sau într-o anumită perioadă de timp</i>	34
a. Sisteme cu eliberare întârziată	34
b. Sisteme cu eliberare prelungită.....	34
II.3.1.2. <i>Sisteme loco-regionale</i>	36
II.3.2. Mecanisme de eliberare controlată.....	36
II.3.2.1. <i>Difuzie</i> [139, 140].....	36
a. Sisteme tip rezervor	36
b. Sisteme sub formă de matrici.....	37
II.3.2.2. <i>Eroziune</i> [139, 140].....	38
II.3.2.3. <i>Osmoză</i> [139, 140]	39
II.3.2.4. <i>Gonflare</i> [139, 140].....	39
II.3.2.5. <i>Dependenta de pH</i> [139, 140]	40
II.3.2.6. <i>Schimb ionic</i>	41
II.4. METODA “SPIN COATING”	43
II.4.1. Etapele procesului de „spin coating”	45
II.4.1.1. <i>Dozarea</i>	45
II.4.1.2. <i>Divizarea</i>	45
II.4.1.3. <i>Îndepărtarea excesului de soluție</i>	45
II.4.1.4. <i>Uscarea</i>	45
II.4.2. Avantaje și dezavantaje	46
II.4.3. Studii legate de folosirea metodei de spin coating descrise anterior în literatură	46
II.5. STENTURI CARDIOVASCULARE	47
II.5.1. Structura stenturilor	48

II.5.2. Clasificarea stenturilor	51
II.6.2.1. Stenturi cu auto-extindere	51
II.6.2.2. Stenturi cu extindere utilizând un balon	51
II.5.3. Tipuri de stenturi	52
II.5.3.1. Stenturi modificate pe suprafață	52
a. Acoperiri organice	53
b. Acoperiri pe bază de materiale biologice	54
c. Acoperiri anorganice	54
II.5.3.2. Stenturi bioresorbabile	56
a. Stenturi metalice bioresorbabile	56
b. Stenturi polimerice bioresorbabile	58
c. Stenturi cu eliberare de principii biologice active	59
II.6.3.3. Stenturi polimerice sau cu acoperiri polimerice	60
II.6.3.4. Stenturi ce nu conțin polimeri în structură	62
II.5.4. Medicamente folosite la fabricarea stenturilor cu eliberare controlată	64
II.5.5. Exemple de stenturi cu eliberare de medicamente disponibile comercial	67
III. REZULTATE ȘTIINȚIFICE OBȚINUTE ÎN ACTIVITATEA DE CERCETARE DOCTORALĂ	71
III.1. MODIFICAREA FIZICĂ A SUPRAFETEI DE PVC UTILIZÂND SOLVENȚI PENTRU GONFLAREA SUPRAFETEI	72
III.1.1. Materiale și metode	72
III.1.2. Mod de lucru	72
III.1.3. Rezultate și discuții	73
III.1.4. Concluzii	76
III.2. MODIFICAREA CHIMICĂ A SUPRAFETEI PVC	77
III.2.1. Materiale și metode	77
III.2.2. Mod de lucru	77
III.2.3. Rezultate și discuții	78
III.2.4. Concluzii	85
III.3. SINTEZA DICOUMAROLULUI	86
III.3.1. Materiale și metode	86
III.3.2. Mod de lucru	87
III.3.3. Rezultate și discuții	89
III.4. SINTEZA WARFARINEI	91
III.4.1. Materiale și metode	91
III.4.2. Mod de lucru	92
III.4.3. Rezultate și discuții	92

III.5. MODIFICAREA SUPRAFEȚEI DE PVC UTILIZÂND METODA SPIN COATING	94
III.5.1. Modificare prin depunere de film PVC/Dicoumarol	94
III.5.1.1. <i>Materiale și metode</i>	94
III.5.1.2. <i>Depunerea filmului de PVC/Dicoumarol</i>	95
III.5.1.3. <i>Rezultate</i>	97
a. Eliberarea dicoumarolului din filmul subțire depus pe suprafața de PVC	98
b. Adsorbția proteinelor pe suprafața de PVC	106
c. Aderența bacteriană	108
III.5.1.4. <i>Discuții</i>	109
III.5.1.5. <i>Concluzii</i>	112
III.5.2. Modificarea suprafeței de pvc prin depunere de nanoparticule de argint pe suprafață	113
III.5.2.1. <i>Materiale și metode</i>	113
III.5.2.2. <i>Mod de lucru</i>	114
III.5.2.3. <i>Rezultate și discuții</i>	117
a. Compoziția și morfologia suprafeței	117
b. Eliberarea ionilor de argint	122
c. Aderarea albuminei pe suprafață	123
d. Teste biologice	128
III.6. EVALUAREA PROPRIETĂȚILOR DATE DE ACOPERIRILE CU OXINITRURĂ DE TITAN (TiO_xN_y) REALIZATE PENTRU OBTINEREA STENTURILOR CARDIOVASCULARE STRATIFICATE	131
III.6.1. Materiale și metode	131
III.6.2. Rezultate și discuții	132
III.6.2.1. <i>Stabilitatea in vitro, în SBF</i>	136
III.6.2.2. <i>Adsorbția de proteine (albumină)</i>	137
III.6.2.3. <i>Analize biologice</i>	148
CONCLUZII	
C1. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE	150
C2. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ	155
DISEMINAREA REZULTATELOR	156
BIBLIOGRAFIE	157

CUVINTE CHEIE: policlorura de vinil, modificarea suprafeței, catetere, spin coating, suprafețe cu proprietăți anticoagulante, suprafețe cu proprietăți antimicrobiene, stenturi cardiovasculare, oxinitrură de titan.

INTRODUCERE

Cateterele sunt dispozitive medicale care se utilizează pe scară largă pentru tratamente medicale. Din păcate acestea prezintă efecte secundare datorate în principal aderării și proliferării bacteriilor pe suprafață. Cele mai importante dezavantaje ale dispozitivelor medicale sunt reprezentate de calcifieri, defecțiuni de structură infecții, tromboze. O proprietate foarte importantă a dispozitivelor medicale o reprezintă biocompatibilitatea, ceea ce înseamnă abilitatea acestora de a-și îndeplini funcțiile fără a da efecte secundare. Comportarea dispozitivelor medicale depinde de proprietățile fizice ale materialului (rigiditate, rugozitate a suprafeței), dar și de natura chimică [1]. Aderența și proliferarea bacteriilor și celulelor vii pe suprafața de contact cu țesuturile vii sunt cauzele principale de contaminare nosocomială, de aceea este necesară o atenție deosebită asupra modurilor în care se poate preveni sau minimiza apariția infecțiilor datorate dispozitivelor medicale [2, 3]. Policlorura de vinil (PVC) este un material cu o bună biocompatibilitate, accesibil, cu un preț scăzut, de aceea a fost ales pentru studiu cu scopul de a obține un biomaterial care să reducă efectele secundare descrise mai sus.

Obiectivul acestui studiu de cercetare doctorală îl reprezintă modificarea suprafeței policlorurii de vinil, astfel încât materialul obținut să nu permită aderarea și proliferarea bacteriilor și celulelor pe suprafața sa, să nu permită coagularea sângelui sau formarea de calcifieri. Aceste aspecte sunt foarte importante atunci când materialul este destinat utilizării în domeniul medical pentru obținerea cateterelor. Cele mai frecvente probleme întâlnite în cazul cateterelor sunt datorate blocării lor sau apariția unei infecții în locul implantării acestora. Datorită acestor efecte secundare, cateterele trebuie îndepărtate și înlocuite frecvent, ceea ce presupune o altă intervenție chirurgicală, costuri ridicate și provoacă un discomfort major pacientului.

Pentru atingerea obiectivului dorit, în cadrul Tezei de Doctorat cu titlul „**Sisteme cu eliberare și vectorizare de principii biologice active**”, s-au studiat atât metode de modificare fizică, cât și chimică a suprafeței de PVC. Modificarea fizică s-a realizat pentru a elimina denivelările apărute în urma procesului de fabricație a filmelor de PVC cu scopul de a obține o suprafață cât mai netedă. Cu cât suprafața este mai netedă, cu atât este mai puțin probabil ca organismele celulare să adere la suprafața materialului. În cazul în care materialul prezintă o suprafață rugoasă, în preajma acestor defecte date de rugozitate se pot ancora bacterii sau celule care nu pot fi eliminate la trecerea fluidelor biologice deoarece polimerul este hidrofob. Pentru a crește hidrofilia s-a realizat modificarea chimică a suprafeței prin introducerea de grupări hidrofile. Cu scopul de a împiedica coagularea sângelui și respectiv formarea trombozelor, pe suprafața materialului s-a încorporat un anticoagulant din clasa compușilor coumarinici (dicoumarol și respectiv warfarină). S-a utilizat această clasă de compuși deoarece sunt anticoagulante cunoscute și de asemenea, pe lângă activitatea anticoagulantă prezintă și activități antibacteriene, antioxidante, antialergice, antitumorale [4, 5]. Studiarea sintezei unor substanțe active reprezentative ale acestei clase de compuși a fost un alt obiectiv urmărit în cadrul acestei lucrări.

O altă direcție de cercetare abordată în cadrul acestui studiu de cercetare doctorală a constat în studierea comportamentului unor stenturi metalice fabricate din oțel inoxidabil, modificate pe suprafață prin depunerea unui film de TiO_xN_y . Această depunere previne migrarea nichelului, molibdenului, cromului sau a altor metale din suprafața de oțel inoxidabil, reducând inflamațiile și toxicitatea [15]. Proprietățile fizico-chimice și biologice ale filmelor de TiO_xN_y diferă în funcție de metoda de depunere, de raportul N/O prezent pe

suprafață. Stenturile sunt dispozitive utilizate în cadrul intervențiilor coronariene percutanate sau în cazul angioplastiilor coronariene. Aceste proceduri sunt realizate pentru a determina revascularizarea în zona implantată [12, 13]. Prima variantă de stenturi a fost dezvoltată în anii 1980, însă de atunci s-au realizat nenumărate modificări în structura și compoziția acestora [12]. La început, majoritatea stenturilor erau fabricate în cea mai mare parte din metale (oțel inoxidabil, aliaje de cobalt-crom, aliaj nichel – titan (nitinol), etc.). De-a lungul timpului, au fost studiate și alte materiale, cum sunt polimerii biodegradabili sau non-biodegradabili, dar și materiale multistrat cu diferite acoperiri ale suprafeței, cu scopul de a fi folosite în cadrul acestor aplicații. Cu toate acestea, complicațiile asociate cu implantarea stenturilor rămân totuși o problemă. Pentru ca un stent să fie considerat ideal acesta trebuie să prevină inflamațiile, restenoza, să împiedice formarea trombozelor, dar în același timp să inițieze entolialozarea [14].

Teza a fost structurată în trei capitole principale, fiecare dintre acestea fiind împărțit în mai multe subcapitole importante. În primul capitol, sunt prezentate obiectivele științifice ale activității de cercetare doctorală. Capitolul II (**INTRODUCERE**) constă într-o scurtă introducere, urmată de o descriere amănunțită a principalelor teme studiate în cadrul acestei lucrări. Această descriere a fost realizată în urma realizării unui studiu amănunțit a literaturii de specialitate, în domeniul prezentului studiu de cercetare. Activitatea de cercetare bibliografică a fost structurată pe subcapitole astfel: **II.1 CATETERELE** – acest subcapitol prezintă informații legate de formularea cateterelor, tipurile de materiale folosite la fabricarea acestora, tipurile de catetere disponibile pe piață, utilizarea acestora, proprietățile pe care aceste dispozitive trebuie să le îndeplinească în funcție de aplicația urmărită, dar și informații legate de dezavantajele cateterelor disponibile pe piață. Subcapitolul următor, **II.2. POLICLORURA DE VINIL**, se axează pe descrierea materialului ales pentru a fi studiat, respectiv policlorura de vinil, proprietățile pe care acesta le prezintă, dar și metodele de modificare a suprafeței, cu scopul de a-i îmbunătăți caracteristile, pentru a putea fi folosit la formularea cateterelor. Pentru a avea o imagine clară a modurilor în care se poate realiza încorporarea de principii active pe suprafața polimerului, pentru a obține un comportament de eliberare adecvat pentru aplicația urmărită, s-au studiat în detaliu tipurile de sisteme cu eliberare controlată de medicamente, dar și mecanismele de livrare a substanței active (**II.3. SISTEME CU ELIBERARE CONTROLATĂ DE PRINCIPII BIOLOGICE ACTIVE**). În cadrul studiilor experimentale suprafața de PVC a fost modificată fizic prin depunerea unor filme subțiri folosind metoda spin coating. Subcapitolul **II.4. METODA SPIN COATING** prezintă descrierea detaliată a acestei tehnici de acoperire, dar și direcția de cercetare pe această temă urmărind publicațiile din literatura de specialitate. **II.5. STENTURI CARDIOVASCULARE** este un subcapitol dedicat celui de al 2-lea tip de dispozitive medicale studiate în cadrul lucrării de doctorat, respectiv dispozitive de tip stent. Această parte a lucrării cuprinde numeroase studii legate de sinteza, proprietățile, dar și comportamentul stenturilor la contactul cu fluidele biologice, stadiul actual al cercetării pe acest domeniu, dar și tendințele de dezvoltare ulterioară.

Capitolul III. **REZULTATE ȘTIINȚIFICE OBTINUTE ÎN ACTIVITATEA DE CERCETARE DOCTORALĂ** prezintă partea practică a lucrării de doctorat în care sunt prezentate contribuțiile originale, rezultatele obținute în urma efectuării de experimente practice în laborator și interpretarea datelor experimentale. Pentru început, așa cum este descris în capitolul **III.1. MODIFICAREA FIZICĂ A SUPRAFETEI DE PVC UTILIZÂND SOLVENȚI PENTRU GONFLAREA SUPRAFETEI**, s-a studiat modificarea fizică a suprafeței de PVC de grad medicinal, material ce prezintă defecte, denivelări în urma procesului de producție, cu scopul de a reduce cât mai mult posibil aceste defecte de suprafață. Pentru aceasta, s-a realizat imersarea unor probe plane de PVC în diverși solvenți, pentru diferite perioade de timp, astfel încât polimerul să se gonfleze la suprafață,

însă fără a avea loc dizolvarea acestuia. Acest tratament a dus la corectarea defectelor prezente pe suprafața PVC. Chiar dacă în urma acestei modificări suprafața nu mai prezintă rugozitate, aceasta are încă un dezavantaj important, PVC fiind un polimer hidrofob ceea ce face ca biocompatibilitatea sa să fie redusă. Pentru a-i îmbunătăți hidrofilia, PVC a fost modificat chimic prin introducerea de grupări esterice pe suprafață. Această modificare dar și rezultatele obținute sunt descrise pe larg în capitolul **III.2. MODIFICAREA CHIMICĂ A SUPRAFEȚEI PVC**. În capitolele **III.3 SINTEZA DICOUMAROLULUI** și respectiv **III.4. SINTEZA WARFARINEI** sunt prezentate modurile de lucru și parametrii optimi obținuți pentru a obține produs pur cu randament cât mai mare pentru sinteza acestor principii active din clasa de compuși cumarinici, ce au efect anticoagulant. În continuare s-a studiat încorporarea acestor compuși folosind metoda spin coating (**III.5. MODIFICAREA SUPRAFEȚEI DE PVC UTILIZÂND METODA SPIN COATING**), prin depunerea unui film tot de PVC având încorporat principiul activ. În urma experimentelor realizate s-a observat că warfarina nu este un compus potrivit pentru aplicația vizată deoarece are o bună solubilitate în apă și se eliberează rapid din interiorul filmului. Studiul s-a axat așadar pe realizarea de filme PVC/Dicoumarol. Modul de lucru, rezultatele și interpretarea datelor experimentale au fost descrise în capitolul **III.5.1 Modificare prin depunere de film PVC/Dicoumarol**. Capitolul conține o discuție detaliată legată de comportamentul de eliberare a dicoumarolului de pe suprafața filmului depus, adsorbția de proteine și capacitatea de a împiedica dezvoltarea bacteriană pe suprafața materialului. Cu scopul de a obține o suprafață cu proprietăți antibacteriene, s-a studiat depunerea de argint pe suprafața PVC. Încorporarea de argint a fost realizată tot folosind metoda spin coating, prin depunerea unui film de PVC/AgNO₃. Modul în care s-a realizat această depunere, materialele și metodele de analiză folosite, interpretarea datelor experimentale și o discuție detaliată referitoare la compoziția și morfologia suprafeței, comportamentul de eliberare a ionilor de argint, aderarea albuminei pe suprafața probelor, dar și referitor la rezistența PVC modificat la aderarea culturilor bacteriene *Gram negative* și respectiv *Gram pozitive*, sunt descrise în capitolul **III.5.2. Modificarea suprafeței de pvc prin depunere de nanoparticule de argint pe suprafață**.

O altă direcție în cadrul activității de cercetare doctorală a fost legată de caracterizarea suprafețelor unor stenturi de oțel inoxidabil cu acoperire de TiOxNy. Capitolul **III.6. EVALUAREA PROPRIETĂȚILOR DATE DE ACOPERIRILE CU OXINITRURĂ DE TITAN (TiOxNy) REALIZATE PENTRU OBTINEREA STENTURILOR CARDIOVASCULARE STRATIFICATE** prezintă materialele și metodele folosite, dar și o discuție pe larg legată de stabilitatea acestor stenturi *in vitro*, modul de interacțiune cu proteinele prezente în sânge (albumină) și rezistența la aderarea bacteriilor pe suprafață.

În încheiere sunt prezentate concluziile generale rezultate în urma activității de cercetare doctorală și contribuțiile originale prezentate în lucrarea cu titlul **SISTEME CU ELIBERARE ȘI VECTORIZARE DE PRINCIPII BIOLOGICE ACTIVE (C1. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE)**. De asemenea sunt menționate și **C2. PERSPECTIVELE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ** a temei prezentate, aceste perspective făcând obiectivul unui studiu de cercetare viitoare.

Cuprinsul prezentei lucrări conține și DISEMINAREA REZULTATELOR în cadrul unor articole științifice publicate în reviste internaționale cotate ISI, având un factor de impact cumulat $.0.41+4.184+4.421+1.205+5.88=16.1$. De asemenea, în final este listată bibliografia studiată, așezată în ordinea apariției în text.

În continuare va fi prezentat pe scurt conținutul capitolului **III. REZULTATE ȘTIINȚIFICE OBTINUTE ÎN ACTIVITATEA DE CERCETARE DOCTORALĂ**, organizat pe subcapitole, menținând numerotarea folosită în cadrul tezei, dar și o bibliografie selectivă păstrând de asemenea numerotarea folosită în textul tezei.

III. REZULTATE ȘTIINȚIFICE OBȚINUTE ÎN ACTIVITATEA DE CERCETARE DOCTORALĂ

III.1. MODIFICAREA FIZICĂ A SUPRAFEȚEI DE PVC UTILIZÂND SOLVENȚI PENTRU GONFLAREA SUPRAFEȚEI

Scopul acestui studiu este acela de a elimina golurile sau denivelările apărute în urma procesului de fabricație și obținerea unei suprafețe cât mai netede. Cu cât suprafața este mai netedă, cu atât este mai puțin probabil ca organismele celulare să adere la suprafața materialului. În cazul în care materialul prezintă denivelări, în preajma acestora se pot ancora bacterii sau celule care nu pot fi spălate la trecerea fluidelor biologice, mai ales că PVC-ul este un material hidrofob și de aceea în zonele respective are loc proliferarea bacteriilor sau celulelor, ceea ce duce la infecții sau, în cazul sângelui, la formarea de cheaguri datorate coagulării.

III.1.1. Materiale și metode

Plăci standard de policlorură de vinil plastifiat cu dioctilftalat, acetonă (Silal Trading), heptan (Merck), dimetilformamidă (DMF), apă demineralizată, au fost folosite fără purificare prealabilă. Probele au fost caracterizate utilizând un microscop în infraroșu, Thermo Scientific Nicolet iN10 Infrared Microscope, pentru a analiza suprafața probei. Scanning Electron Microscopy (SEM) a fost o metodă de analiză utilizată pentru a avea o imagine mai bună a morfologiei suprafeței înainte și după tratarea probelor cu solvent.

III.1.2. Mod de lucru

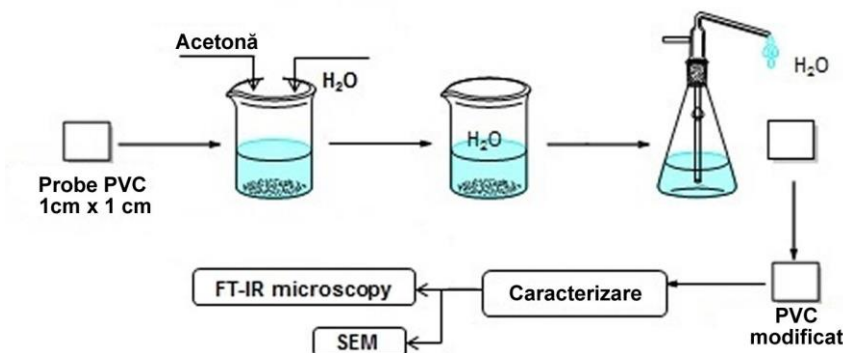


Fig. III-1. Reprezentarea schematică a modului de lucru folosit la modificarea suprafeței de PVC prin gonflare

Pe lângă experimentele realizate în acetonă, s-au efectuat experimente și în soluție apoasă de dimetilformamidă 40%, dar și în heptan, utilizând același mod de lucru.

III.1.1. Rezultate și discuții

Din analiza FT-IR s-a observat că în cazul utilizării heptanului și dimetilformamidei nu s-au obținut rezultate satisfăcătoare. Morfologia suprafeței probelor de PVC nu s-a modificat sau modificările au fost nesemnificative.

În cazul probelor realizate prin imersiune în soluție de acetonă se observă modificări semnificative în cazul probelor expuse la acetonă 100% și în cazul probelor expuse în soluție apoasă de acetonă 50%, după 10 minute de imersiune. În Fig. III-2 sunt prezentate rezultatele obținute prin microscopie în cazul probelor menționate anterior, înainte și după tratamentul de modificare a suprafeței.

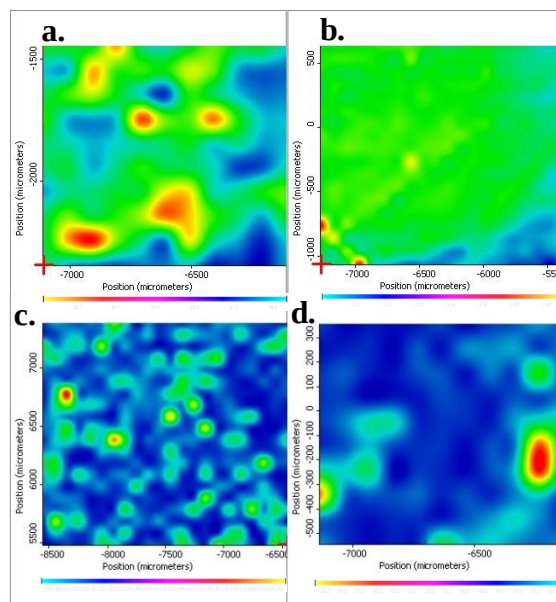


Fig. III-2. Imaginile de microscopie FT-IR pentru: a – proba înainte de imersare în acetonă, b – proba după imersare în acetonă timp de 10 minute, c – proba înainte de imersare în soluție apoasă de acetonă 50%, d - proba după de imersare în soluție apoasă de acetonă 50% timp de 10 minute.

Pentru confirmarea rezultatelor obținute, probele au fost analizate și prin microscopie electronică de baleiaj (SEM)(Fig.III-3).

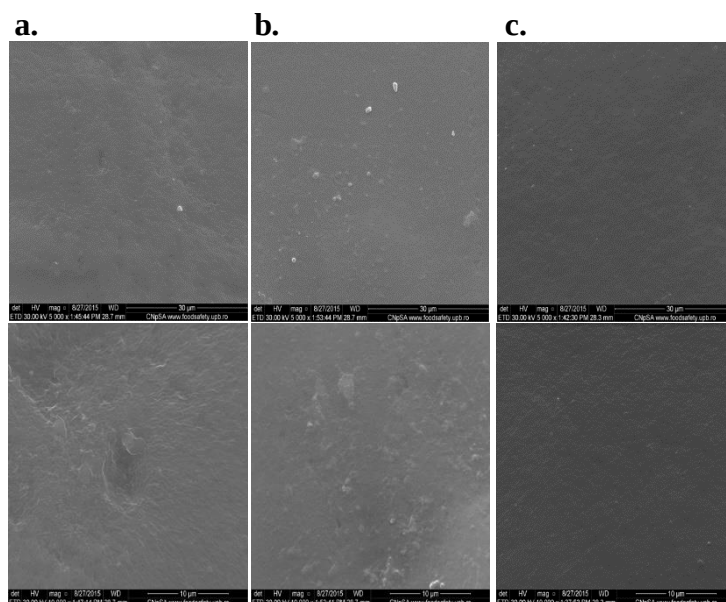


Fig. III-3. Imaginile SEM realizate la mărimi de 2000, 5000 și respectiv 10000, corespunzătoare probelor: a – PVC nemodificat, b – PVC modificat prin imersare în soluție apoasă de acetonă 50% timp de 10 minute, c – PVC modificat prin imersare în acetonă timp de 10 minute.

III.1.1.Concluzii

Această modificare a fost realizată cu succes prin imersarea în acetonă și respectiv în soluție apoasă de acetonă 50%, așa cum se poate observa din analizele efectuate cu ajutorul microscopului de transmisie FT-IR asupra probelor, înainte și după tratarea suprafeței. Aceste rezultate au fost confirmate și de rezultatele obținute în urma analizei SEM.

III.2. MODIFICAREA CHIMICĂ A SUPRAFEȚEI PVC

Modificarea chimică a suprafeței de PVC cu acetat de argint (AcOAg) și respectiv lactat de argint (LAg) a fost studiată în cadrul acestei lucrări cu scopul de a obține o suprafață mai hidrofilă, mai higroscopică. Transformarea are loc conform reacției prezentate în Fig. III-4.

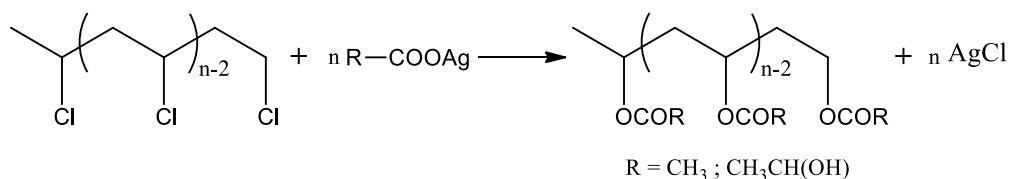


Fig. III-4. Reacția chimică care are loc între PVC, acetatul de argint și respectiv lactatul de argint

III.2.1. Materiale și metode

Plăci standard de policlorură de vinil plastifiat cu dioctilftalat, acetat de argint (Alfa Aesar), lactat de argint (Alfa Aesar), acetonă (Silal Trading), apă demineralizată, au fost folosite fără purificare prealabilă.

Probele au fost analizate utilizând spectroscopul cu infraroșu Thermo Fischer Nicolet iN10 Attenuated Total Reflection Infrared. De asemenea, s-a realizat și măsurarea unghiului de contact la nivelul suprafeței probelor.

III.2.2. Mod de lucru

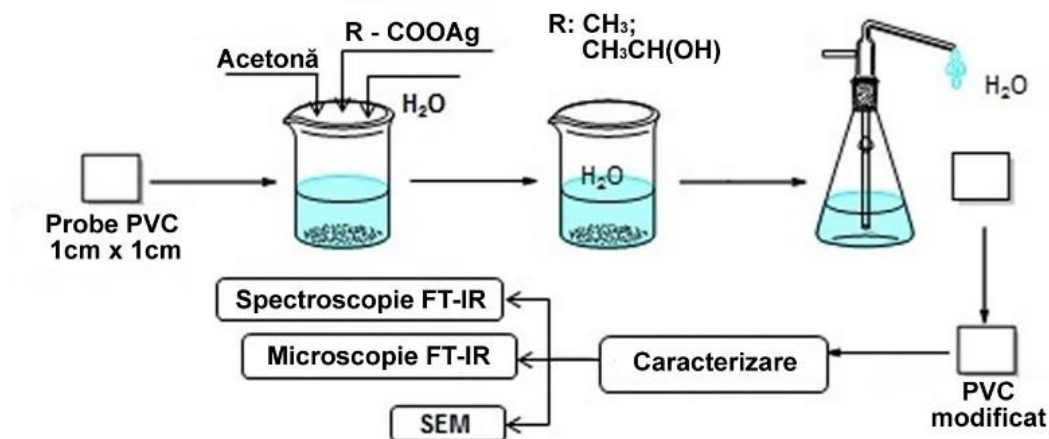


Fig. III-5. Reprezentarea schematică a modului de lucru folosit la modificarea chimică suprafeței de PVC

Probele de PVC au fost modificate chimic prin introducerea de grupări esterice pe suprafață, folosind atât acetat de argint, cât și lactat de argint. Modul de lucru, reprezentat în Fig. III-5, a constat în imersarea probelor de PVC în soluții de acetat de argint și respectiv lactat de argint atât la temperatura camerei, cât și la 50°C, pentru diverse perioade de timp.

III.2.1. Rezultate și discuții

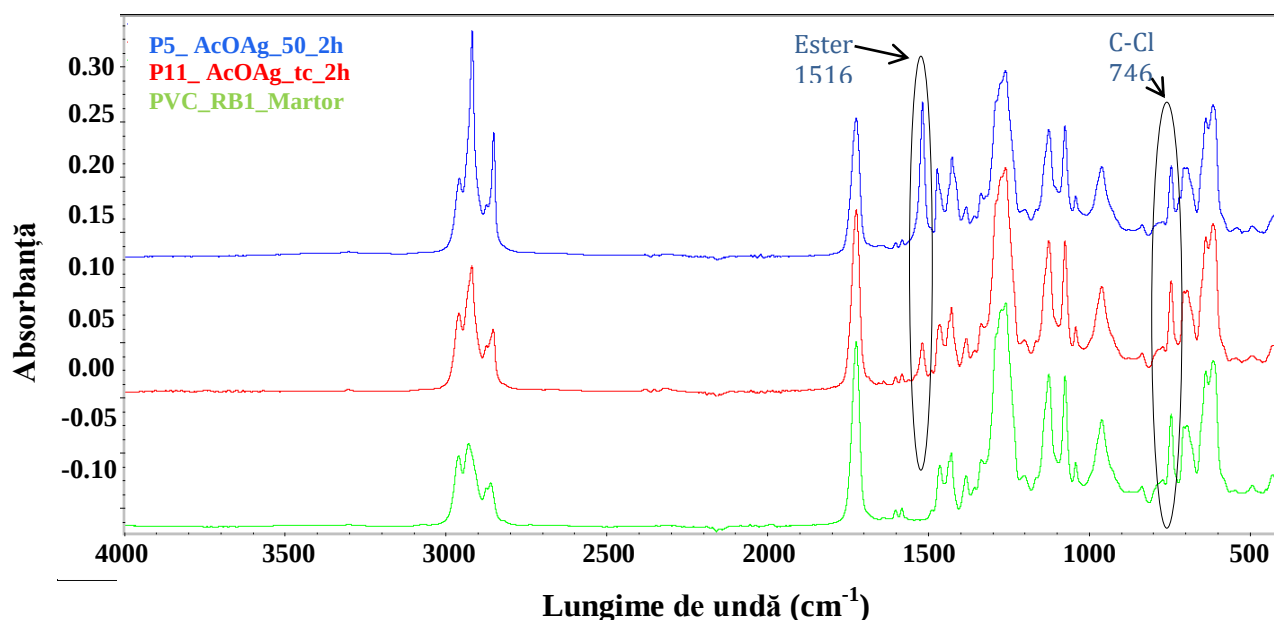


Fig. III-8. Comparație între spectrul inițial de PVC și spectrele obținute în cazul celor 2 experimente realizate cu AcOAg, după 2 ore de reacție

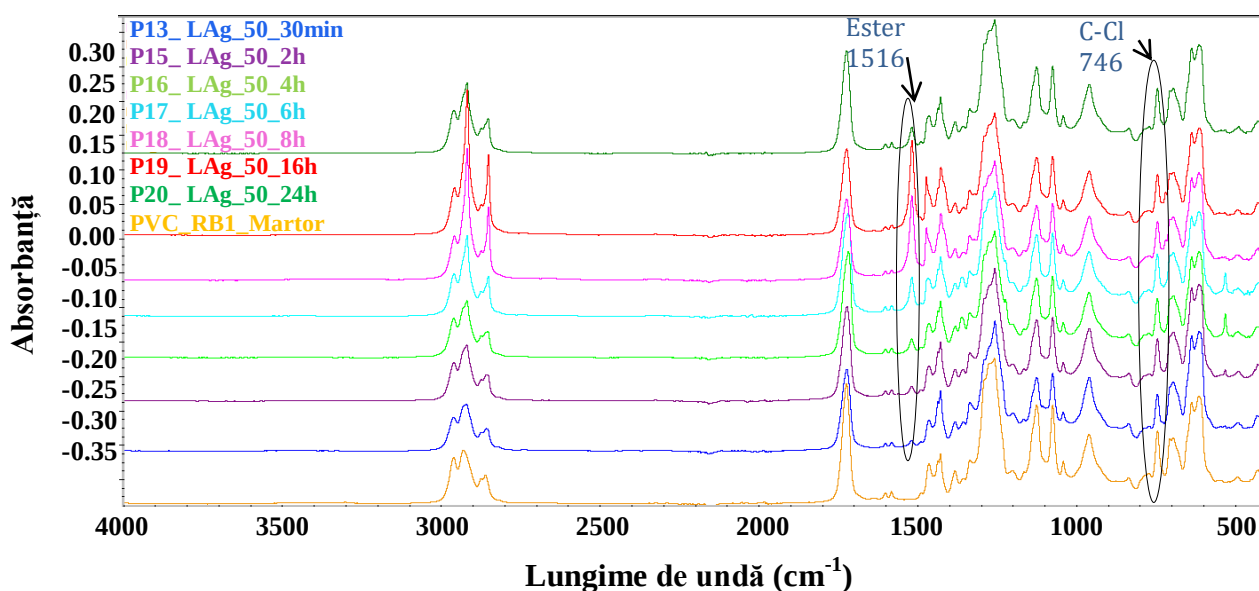


Fig. III-9. Spectrul IR pentru probele rezultate din reacția cu LAG la 50°C

În cazul utilizării LAG viteza de reacție este mult mai mică chiar și când este condusă la 50°C (Fig. III-9). Apariția legăturii esterice pe suprafața de PVC modificată cu LAG, conducând reacția la temperatura camerei, are loc abia după 6h (Fig. III-10). După 8h intensitatea peakului corespunzător legăturii esterice crește semnificativ, ceea ce înseamnă că reacția are loc mult mai rapid odată inițiată. Crescând temperatura la 50°C viteza de reacție crește semnificativ, apariția legăturii esterice pe suprafață având loc după doar 30 min chiar dacă doar în cantități mici. Pentru a obține un randament similar cu cel obținut în urma reacției cu AcOAg, reacția PVC cu LAG trebuie să se desfășoare pentru cel puțin 7-8h.

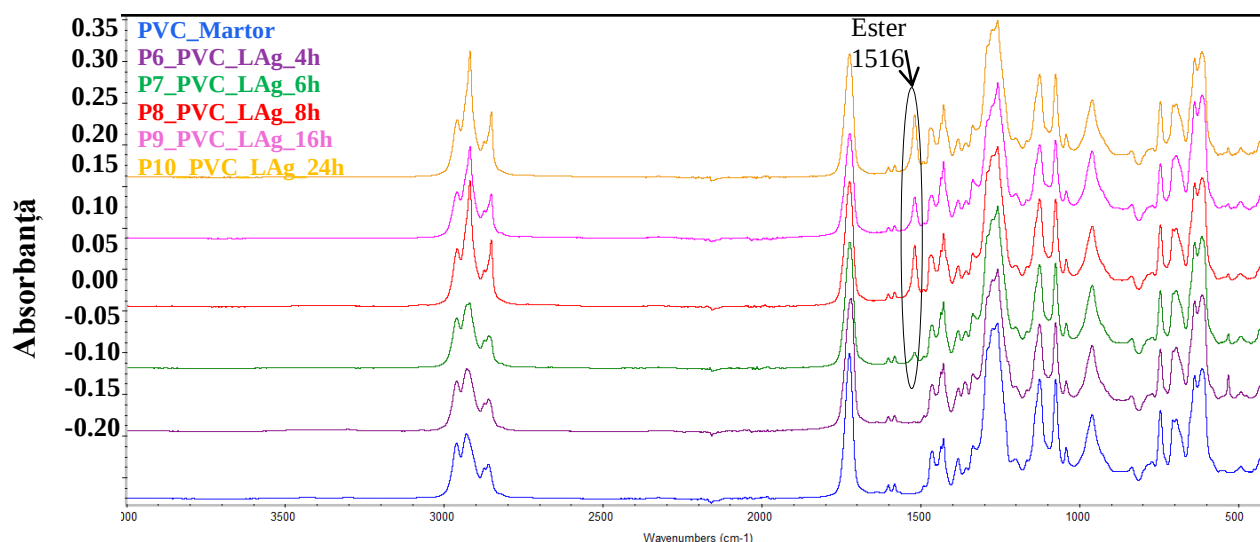


Fig. III-10. Spectrul IR pentru probele rezultate din reacția cu LAg la temperatura camerei

Pentru a determina dacă prin modificarea suprafeței prin introducerea de grupări esterice, hidrofobia materialului se modifică, unghiul de contact a probelor modificate cu AcOAg și respectiv LAg, la diferiți timpi de reacție, a fost determinat și comparat cu unghiul de contact al PVC inițial (Fig. III-11).

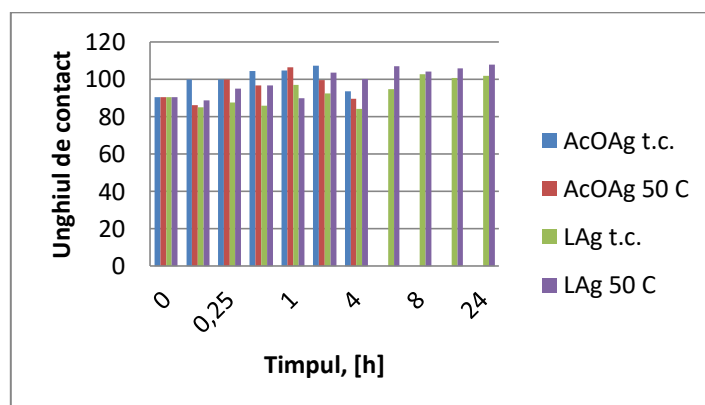


Fig. III-11. Modificarea unghiului de contact după reacția cu AcOAg și respectiv LAg la diferiți timpi de reacție

III.2.1. Concluzii

Modificarea chimică a suprafeței a fost realizată cu scopul de a crește hidrofilia suprafeței polimerului și proprietăților de umezire astfel încât să nu permită aderarea bacteriilor și celulelor pe material. Această modificare a fost efectuată cu succes prin reacția cu acetatul de argint dar și cu lactat de argint, pe suprafața polimerului fiind introduse grupări esterice. Prezența acestor grupări a fost confirmată prin analizarea probelor obținute prin spectrometrie în infraroșu. În spectrele corespunzătoare suprafețelor modificate se observă apariția benzii corespunzătoare esterului (1516 cm^{-1}) și scăderea intensității benzii corespunzătoare legăturii C-Cl (746 cm^{-1}). În cazul modificării chimice a suprafeței de PVC cu acetat de argint în mediu de acetonă 50% la temperatura camerei, timpul necesar terminării reacției este de 2 ore, iar în cazul în care modificare se face la 50°C timpul necesar este 1 oră. În cazul folosirii lactatului de argint pentru introducerea de grupări esterice pe suprafața PVC

este necesar un timp de reacție mult mai mare, de peste 4 ore, ceea ce poate duce la degradarea polimerului.

Unghiul de contact maxim ce se atinge utilizând acest tip de modificare are o valoare similară atât în cazul AcOAg cât și în cazul LAg însă diferența între timpii de reacție necesari este foarte mare, reacția cu AcOAg fiind preferabilă. Cu cât polimerul este în contact cu solventul pe o perioadă mai mare de timp, cu atât modificarea proprietăților PVC este mai mare.

III.3.SINTEZA DICOUMAROLULUI

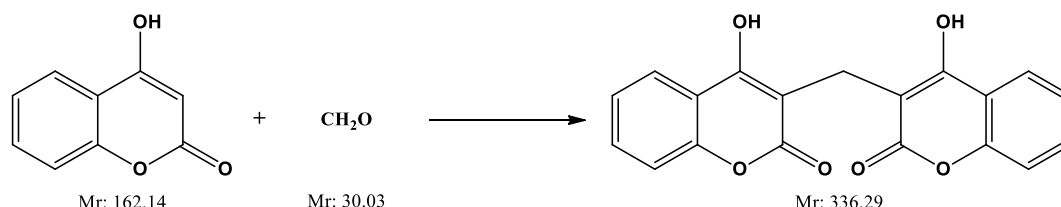


Fig. III-12. Schema de sinteză a dicoumarolului

Metodele studiate în cadrul activității de cercetare, până în acest moment, au fost metodele propuse de K. M. Khan și co. [349] și respectiv M. Prabhakar [352]. Aceste procedee de sinteză au fost îmbunătățite, modul de lucru fiind optimizat, iar randamentul crescut semnificativ. De asemenea puritatea compușilor rezultați a fost îmbunătățită.

III.3.1. Materiale și metode

4-hidroxycumarină (Merck), fomaldehidă (Merck), EDTA (Reanal Budapest), etanol (Chemical Company), toluen (Merck), piperidină (Merck), NaOH (Merck), cărbune norit, au fost folosite fără a fi purificate în prealabil. Produsul obținut a fost analizat utilizând cromatografia în strat subțire și spectroscopia FT-IR.

III.3.2. Mod de lucru

1. Inițial reacția a fost condusă pe calea descrisă de către M. Prabhakar în lucrarea “EDTA – catalyzed fast and efficient eco-friendly synthesis of dicoumarol derivatives in water” [352]. Avansarea reacției a fost verificată prin CSS (plăcuțe: Silica gel 60 F₂₅₄ Merck, eluent: toluen:acetat de etil:acid acetic 20:5:1) așa cum este prezentat în Fig. III-13, Fig. III-14, Fig. III-15. Folosind condițiile de reacție descrise de către autori, randamentul este scăzut, raportul dintre produsul format și materia primă rămasă nereacționată fiind aproximativ 1:1. Mărind timpul de reacție și adăugând un exces de fomaldehidă (1,2 echivalenți), randamentul reacției a fost îmbunătățit semnificativ. Produsul obținut nu poate fi purificat prin metoda descrisă în articol, așadar o altă metodă de purificare a fost elaborată. Produsul brut a fost purificat prin dizolvare în hidroxid de sodiu (NaOH) diluat (cantitate stoichiometrică), s-a decolorat cu cărbune norit, iar soluția limpede s-a extras cu toluen. Faza apoasă s-a acidulat apoi cu acid sulfuric (H₂SO₄) până la pH=2. Suspensia rezultată s-a filtrat la vid, iar precipitatul s-a spălat cu apă demineralizată pentru îndepărtarea urmelor de acid. Solidul alb obținut s-a uscat la etuvă la 105°C. Randamentul obținut: η= 59%.

		
Fig. III-13. Reacția după 40 minute.	Fig. III-14. Cromatograma realizată după efectuarea modificărilor precizate.	Fig. III-15. Dicoumarol purificat

Pe parcursul reacției, suspensia devine foarte compactă și foarte greu de agitat, iar randamentul obținut prin metoda prezentată mai sus este scăzut, de aceea s-a decis realizarea sintezei prin altă metodă.

2. K. M. Khan și co. [349] au propus sinteza dicoumarolului utilizând piperidina pentru a cataliza reacția, în mediu de etanol. Avansarea reacției s-a analizat prin CSS așa cum este prezentat în Fig. III-16, Fig. III-17, Fig. III-18 și Fig. III-19. Această metodă poate fi îmbunătățită semnificativ prin aducerea masei de reacție la temperatura de reflux și prin utilizarea unui exces de formaldehidă. Realizând aceste modificări s-a obținut un randament de 74% în urma purificării. Produsul brut obținut a fost purificat la fel ca și în cazul anterior.

			
Fig. III-16. Masa de reacție conform metodei descrise de către K. M. Khan și co. [349]	Fig. III-17. Cromatograma realizată după efectuarea modificărilor precizate.	Fig. III-18. Produsul brut și respectiv apele de reacție.	Fig. III-19. Dicoumarolul purificat

III.3.1. Rezultate și discuții

În Fig. III-20 este reprezentat spectrul IR al dicoumarolului comparativ cu spectrul corespunzător produsului obținut.

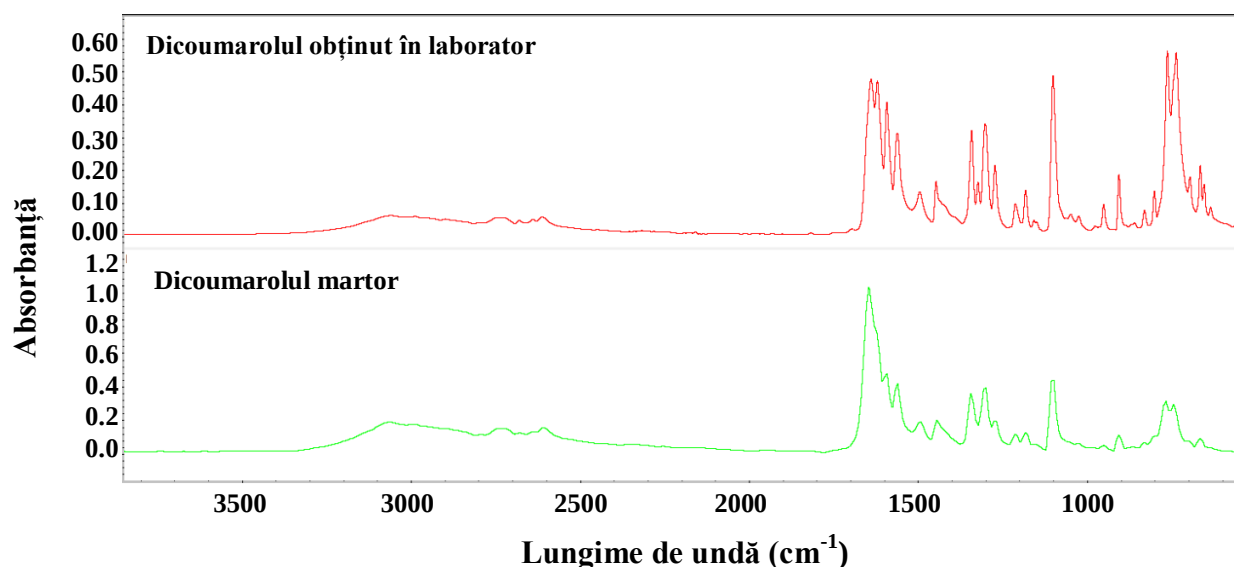


Fig. III-20. Spectrul IR corespunzător dicoumarolului din literatura de specialitate, comparativ cu spectrul corespunzător produsului obținut

Prin compararea spectrului corespunzător dicoumarolului cu spectrul realizat pentru produsul obținut s-a putut confirma obținerea substanței active dorite.

III.4.SINTEZA WARFARINEI

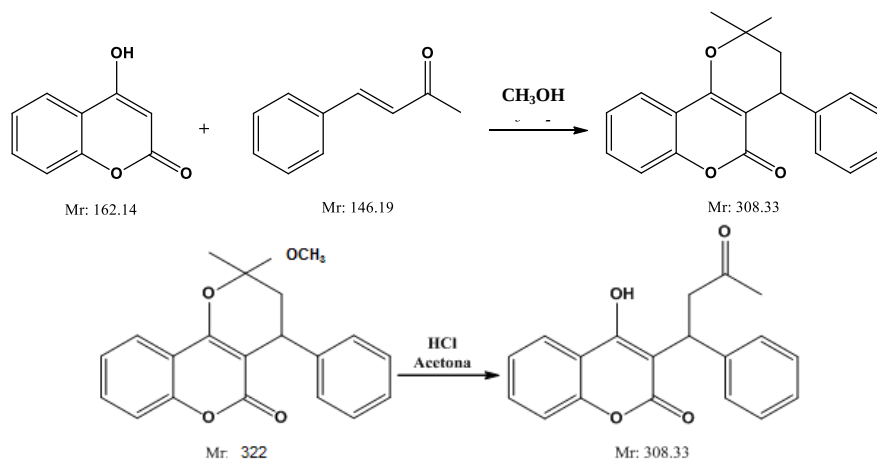


Fig. III-22. Schema de sinteză a warfarinei

III.4.1. Materiale și metode

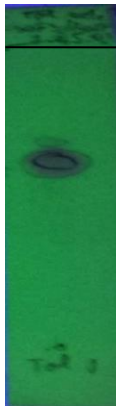
4-hidroxicumarină (Merck), benzilidenacetonă (Merck), piperidină (Merck), metanol (Silal Trading), acetonă (Silal Trading), acid clorhidric (Silal Trading), hidroxid de sodiu (Silal Trading), apă demineralizată au fost utilizate ca atare, fără a fi purificate în prealabil. Produsul obținut a fost analizat utilizând cromatografia în strat subțire și spectroscopia FT-IR.

III.4.2. Mod de lucru

Inițial sinteza a fost realizată conform metodei descrise de E. Bush și W. F. Trager [353]. Această metodă a fost studiată și modificată astfel încât modul de lucru să fie ușurat, iar produsul obținut să fie mai ușor de purificat.

III.4.3. Rezultate și discuții

Ca și în cazul dicoumarolului, și în cazul warfarinei avansarea reacției a fost controlată prin cromatografie în strat subțire (plăcuțe: Silica gel 60 F₂₅₄ Merck, eluent: toluen:dioxan:acid acetic 7:0,5:0,15, dezvoltare: lampa UV 254 nm, vapori de iod), Puritatea produsului a fost determinată tot folosind CSS, pentru a determina eliminarea impurităților (Fig. III-23, Fig. III-24, Fig. III-25, Fig. III-26, Fig. III-27).

				
Fig. III-23. Reacția în prima etapă comparativ cu materiile prime.	Fig. III -24. Esterul rezultat în prima etapă de sinteză.	Fig. III-25. Masa de reacție în cea de-a 2-a etapă de sinteză comparativ cu esterul.	Fig. III-26. Toluenu de extracție din etapa de purificare.	Fig. III-27. Warfarina purificată.

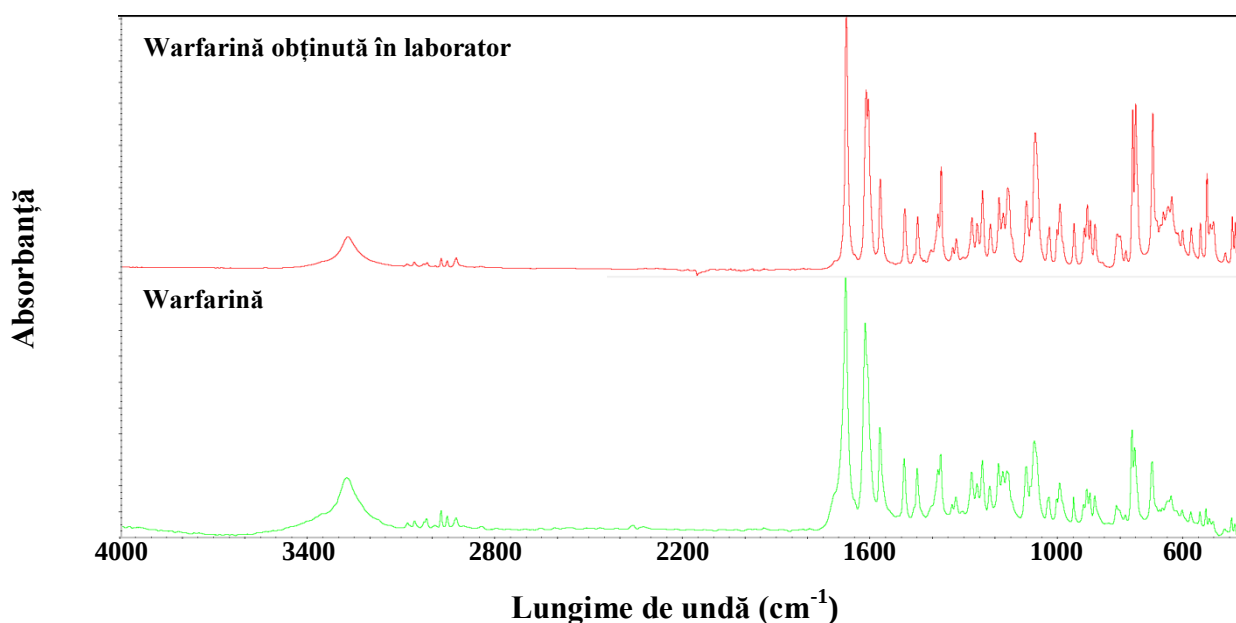


Fig. III-28. Spectrul IR corespunzător warfarinei din literatura de specialitate, comparativ cu spectrul corespunzător produsului obținut

Prin compararea spectrului corespunzător warfarinei cu spectrul realizat pentru produsul obținut s-a putut confirma obținerea substanței active dorite. După purificare, warfarina sintetizată era pură conform analizei de cromatografie în strat subțire (Fig. III-27).

III.5.MODIFICAREA SUPRAFEȚEI DE PVC UTILIZÂND METODA SPIN COATING

În cadrul acestui studiu s-a efectuat modificarea suprafeței de PVC cu scopul de a obține un material care să nu permită aderența celulară și proliferarea bacteriilor pe suprafața sa, dar și să împiedice coagularea sângelui sau formarea de calcifieri. Pentru a obține rezultatele dorite, suprafața de PVC a fost modificată fizic utilizând metoda de spin coating pentru a remedia neregularitățile apărute în urma sintezei și pentru a obține o suprafață netedă, uniformă.

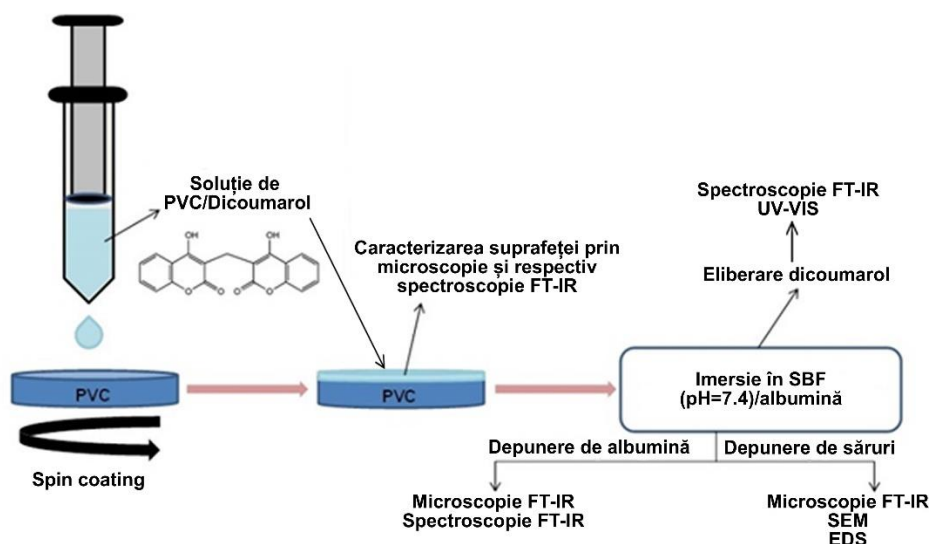
III.5.1. Modificare prin depunere de film PVC/Dicoumarol

III.5.1.1. Materiale și metode

În cadrul acestor experimente s-a folosit dicoumarol (sintetizat utilizând metoda descrisă în capitolul anterior), bovine serum albumin (Fluka), probe plate standard de PVC și tetrahidrofuran.

Probele obținute au fost analizate utilizând un microscop cu infraroșu Thermo Scientific Nicolet iN10 pentru a analiza suprafața probelor, dar și cu un spectroscop Thermo Fischer Nicolet iN10 Attenuated Total Reflection Infrared pentru a determina compoziția suprafeței. Spectrofotometria în domeniul ultraviolet-vizibil a fost realizată cu ajutorul unui spectrofotometru de tip Thermo Scientific Evolution 300 Spectrophotometer cu scopul de a determina eliberarea dicoumarolului de pe suprafața materialului în SBF (simulated body fluid). Analizele Scanning Electron Microscopy (SEM) și Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) au fost realizate pentru a avea o viziune mai bună a sărurilor depuse pe suprafața materialelor analizate. Adsorbția de proteine a fost studiată utilizând microscopie și spectroscopie FT-IR după anumite perioade de imersie în SBF cu conținut de albumină, mimând astfel condițiile din corpul uman. Proprietățile antiaderente ale probelor obținute s-au analizat determinând valorile unităților formatoare de colonii (UFC/mL). Probele au fost testate pentru două tipuri de tulpini standard: Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) și Gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Pentru testele realizate, culturile proaspete de 18-24 h au fost obținute după inocularea tulpinilor bacteriene pe mediu nutritiv de Agar.

III.5.1.1. Depunerea filmului de PVC/Dicoumarol



III.5.1.2.Rezultate

Pentru a confirma prezența dicoumarolului pe suprafața probelor modificate, spectrele FT-IR ale probelor obținute au fost înregistrate și au fost comparate cu spectrul PVC simplu și respectiv al dicoumarolului pur. Fig. III-29 prezintă o comparație între spectrul FT-IR obținut la 4000 rpm, 7000 rpm și respectiv 10,000 rpm, și spectrul PVC și al dicoumarolului.

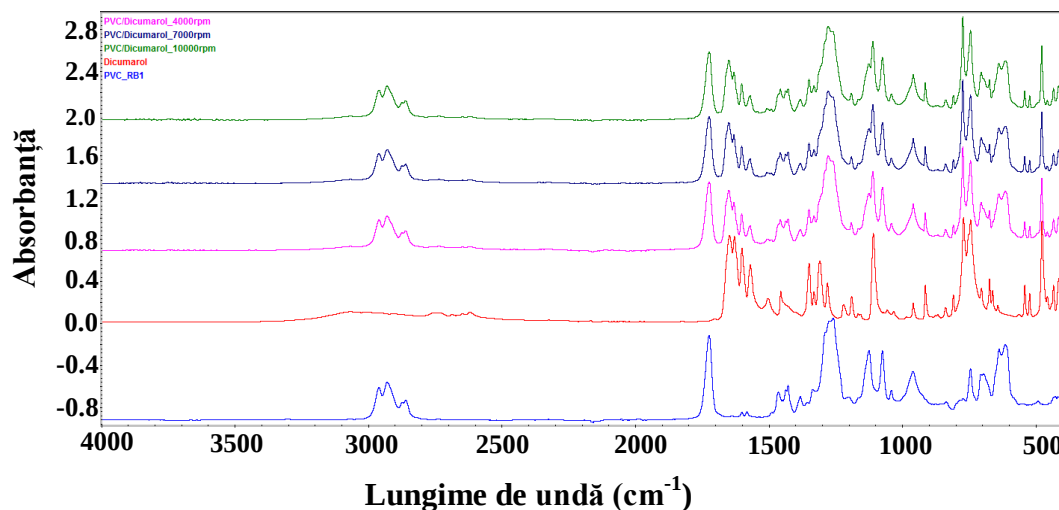


Fig. III-29. Comparație între spectrul FT-IR obținut la 4000 rpm, 7000 rpm și respectiv 10,000 rpm, și spectrul PVC și al dicoumarolului

În spectrele obținute se pot observa peak-urile caracteristice dicoumarolului la 1650 cm^{-1} și 1350 cm^{-1} , corespunzătoare legăturilor $\nu(\text{C}=\text{O})$ și $\nu(\text{C}-\text{O})$ din inelele. De asemenea, peak-urile prezente la $1110\text{--}1130\text{ cm}^{-1}$ indică prezența legăturii $\nu(\text{C}-\text{OH})$ și la 1070 cm^{-1} prezența legăturii $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$.

În Fig. III-30.a-c. sunt prezentate imaginile de microscopie FT-IR ale probelor obținute la 4000 rpm, 7000 rpm și respectiv 10,000 rpm.

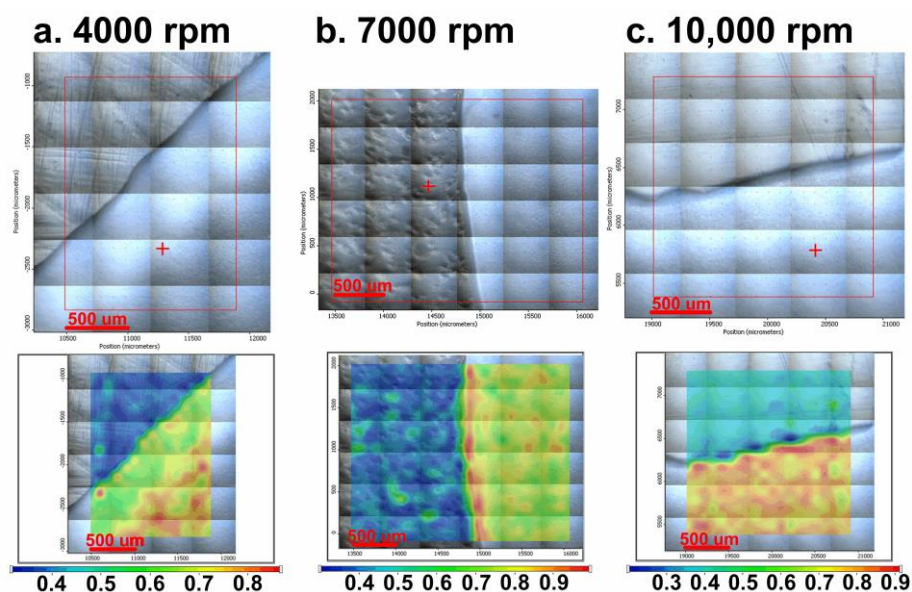


Fig. III-30. Imaginile de microscopie FT-IR obținute la o 1655 cm^{-1} pentru depunerea realizată la 4000 rpm (a), la 1650 cm^{-1} pentru depunerea la 7000 rpm (b) și respectiv la 1654 cm^{-1} pentru depunerea la 10,000 rpm (c).

a. Eliberarea dicoumarolului din filmul subțire depus pe suprafața de PVC

Pentru a determina dacă medicamentul este eliberat de pe suprafață, fiecare probă a fost imersată în 100 mL de soluție de SBF la 36.5 °C și au fost astfel menținute, cu agitare ocazională, timp de 30 de zile. Soluția de SBF a fost analizată prin UV-VIS la 303 nm (lungimea de undă la care absorbanta dicoumarolului este cea mai mare) la diferite perioade de timp (1 h, 2 h, 4 h, 24 h, 2 zile, 3 zile, 7 zile, 10 zile, 14 zile, 21 zile și respectiv 30 zile) pentru a observa comportamentul dicoumarolului în filmul de PVC. De asemenea, probele au fost analizate și prin microscopie FT-IR pentru a determina dacă morfologia suprafeței s-a schimbat în timp în urma contactului cu soluția de SBF. Microscopia FT-IR a fost utilizată și pentru a confirma absența sau prezența dicoumarolului pe suprafață după o anumită perioadă de imersie. Rezultatele obținute cu ajutorul analizei UV-VIS sunt reprezentate în graficul de eliberare corespunzător probelor obținute la 4000 rpm, 7000 rpm și respectiv la 10,000 rpm (Fig. III-31).

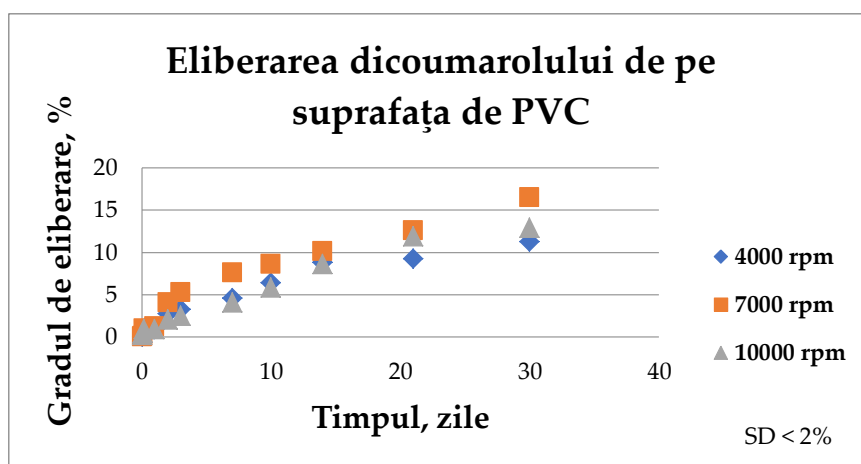


Fig. III-31. Eliberarea dicoumarolului din filmele obținute la 4000 rpm, 7000 rpm și respectiv 10,000 rpm, analizată prin spectrometrie UV-VIS la o lungime de undă de 303 nm; deviația standard: SD < 2% în cazul tuturor punctelor reprezentate

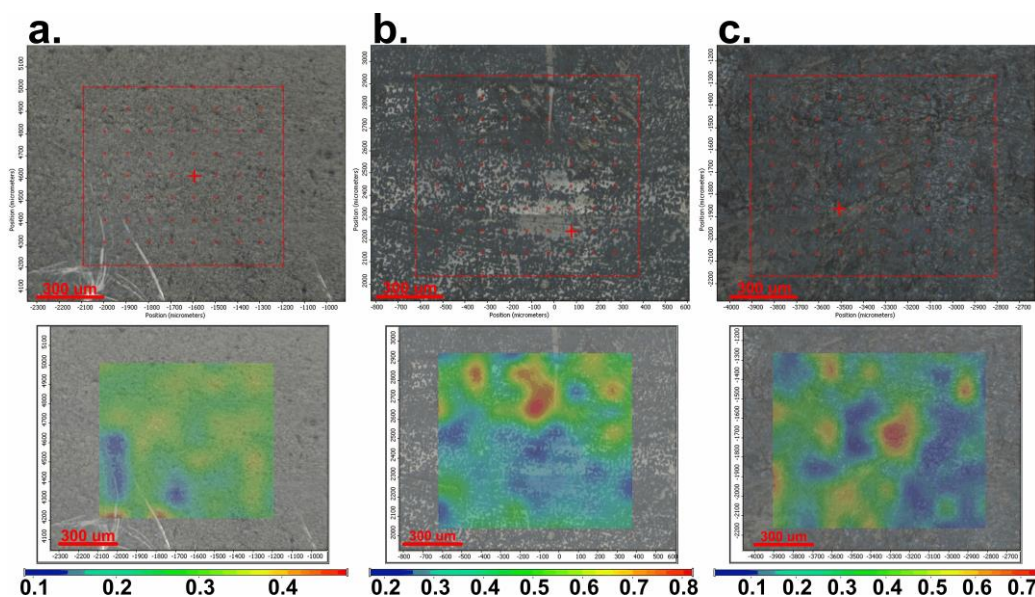


Fig. III-32. Imaginile FT-IR obținute la 1680 cm^{-1} pentru filmul depus la 4000 rpm: (a) după 7 zile de imersie în SBF; (b) după 21 de zile de imersie în SBF; (c) după 30 zile de imersie în SBF

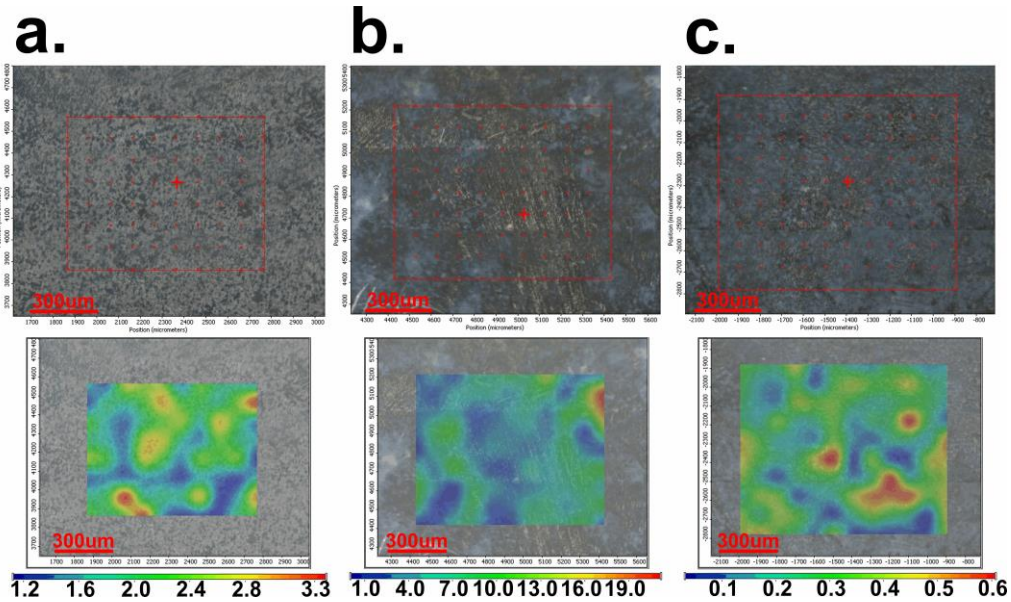


Fig. III-33. Imaginile FT-IR obținute la 1659 cm^{-1} pentru filmul depus la 7000 rpm: (a) după 7 zile de imersie în SBF; (b) după 21 de zile de imersie în SBF; (c) după 30 zile de imersie în SBF

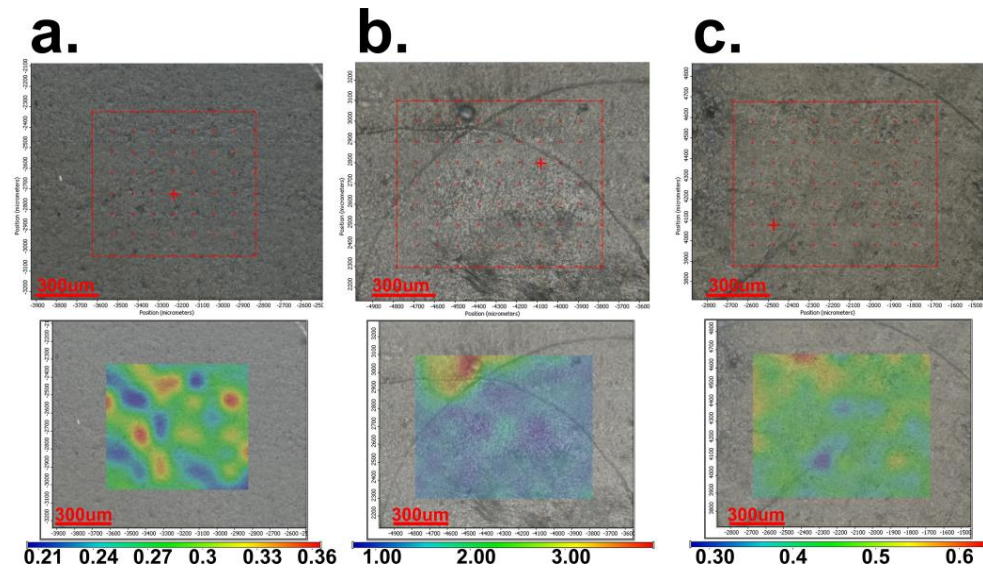


Fig. III-34. Imaginile FT-IR obținute la 1684 cm^{-1} pentru filmul depus la 10,000 rpm: (a) după 7 zile de imersie în SBF; (b) după 21 de zile de imersie în SBF; (c) după 30 zile de imersie în SBF

Pentru a determina dacă acoperirea realizată influențează depunerea de săruri pe suprafață, o probă de PVC nemodificat a fost imersat, de asemenea, în SBF timp de 30 de zile și apoi a fost analizat prin microscopie FT-IR la 1723 cm^{-1} (lungimea de undă caracteristică PVC simplu) la aceleași perioade de timp și în aceleași condiții ca și în cazul probelor modificate.

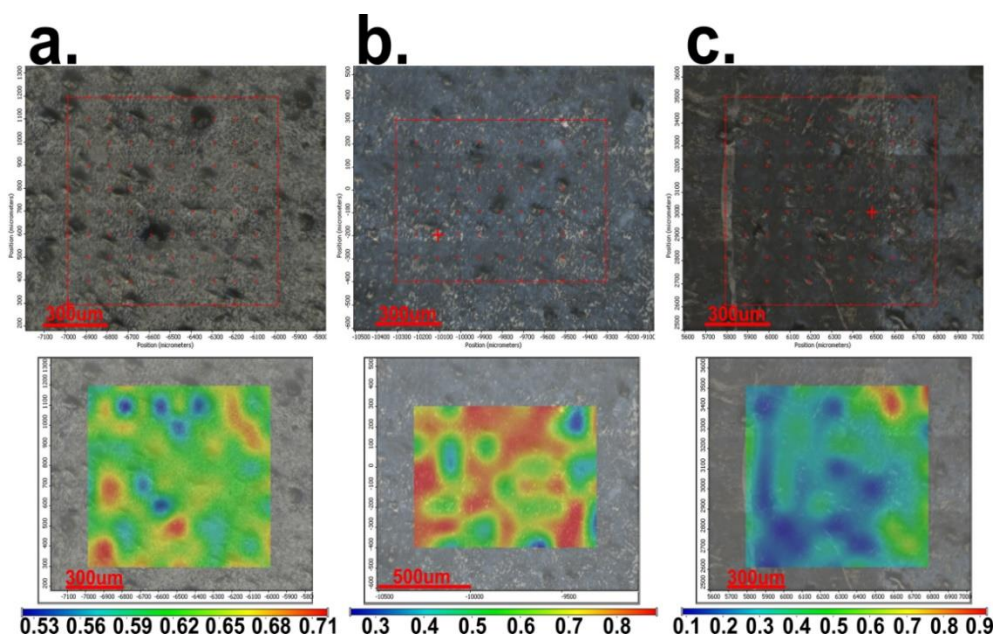


Fig. III-35. Imaginile FT-IR obținute la 1723 cm^{-1} pentru PVC inițial, nemodificat: (a) după 7 zile de imersie în SBF; (b) după 21 de zile de imersie în SBF; (c) după 30 zile de imersie în SBF

Analizele de Scanning Electron Microscopy (SEM) (Fig. III-36) și Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) (Fig. III-37) au fost realizate pentru a avea o viziune mai clară asupra sărurilor depuse pe suprafața probelor, dar și pentru a determina compoziția acestora.

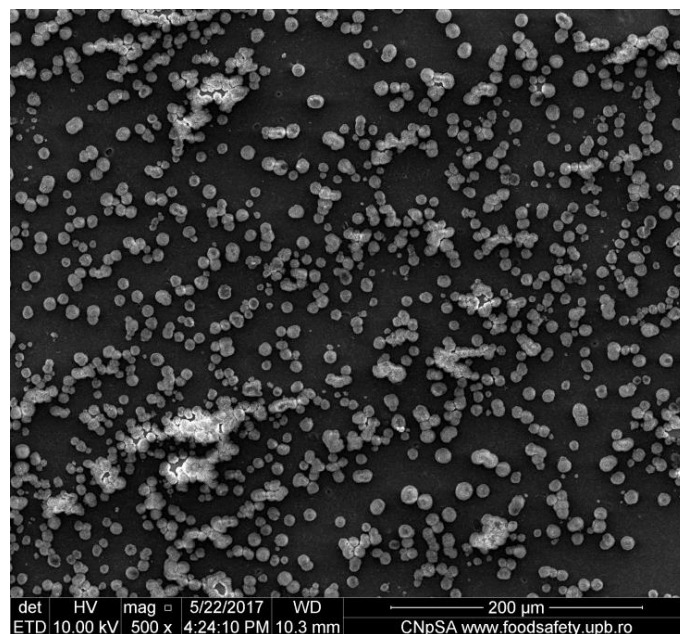


Fig. III-37. Imagine obținută în urma analizei SEM realizată pe probele modificate

Microscopia FT-IR nu oferă o informație foarte clară legată de prezența dicoumarolului în filmul polimeric, de aceea suprafața materialelor a fost analizată și folosind spectroscopia FT-IR în modul ATR după diferite perioade de timp. Pentru a putea estima tendința de eliberare a principiului activ din filmul de polimer depus s-a calculat aria relativă a peak-ului corespunzător dicoumarolului ($\sim 1650\text{ cm}^{-1}$) din spectrele FT-IR.

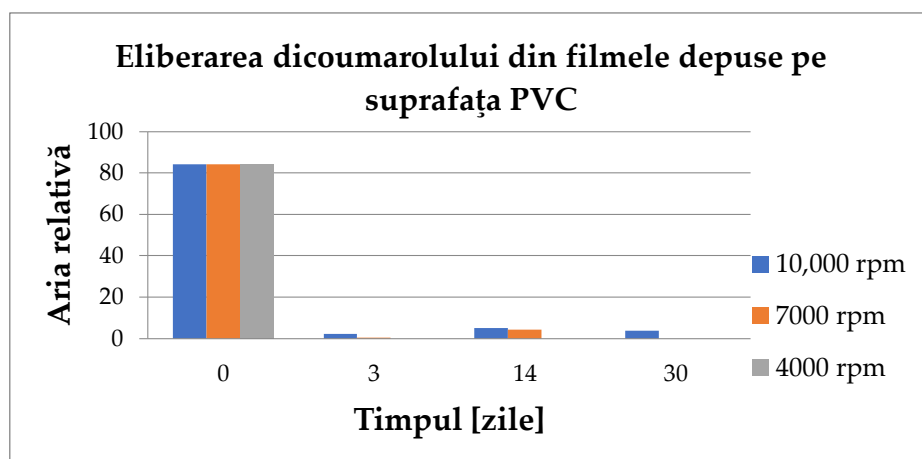


Fig. III-40. Reprezentarea schematică a schimbărilor ce apar în timp în cazul ariei relative a peak-ului corespunzător dicoumarolului încorporat pe suprafața probei pe măsură ce se produce eliberarea din filmul polimeric

b. Adsorbția proteinelor pe suprafața de PVC

Pentru a studia comportamentul la interacția cu proteinele din fluidele biologice al materialului obținut prin acoperire cu un film subțire de PVC/dicoumarol, probele au fost imersate într-o soluție de SBF cu un pH de 7.4 ce conținea 1% albumină (principala proteină întâlnită în sânge), la 36.5 °C. Probele au fost menținute în aceste condiții timp de 30 de zile.

Pentru a pune în evidență peak-urile caracteristice albuminei și pentru a observa dacă acestea apar în spectrul probelor imersate în soluția de SBF/albumină, o probă de PVC a fost acoperită cu albumină prin metoda de drop-cast. Spectrul corespunzător probei obținute prin metoda de drop-cast a fost comparat așadar cu spectrul probelor (PVC neacoperit, 4000 rpm, 7000 rpm, 10,000 rpm) după 7 zile de imersie în soluția cu conținut de proteină și spectrul PVC înainte de imersie (Fig. III-41).

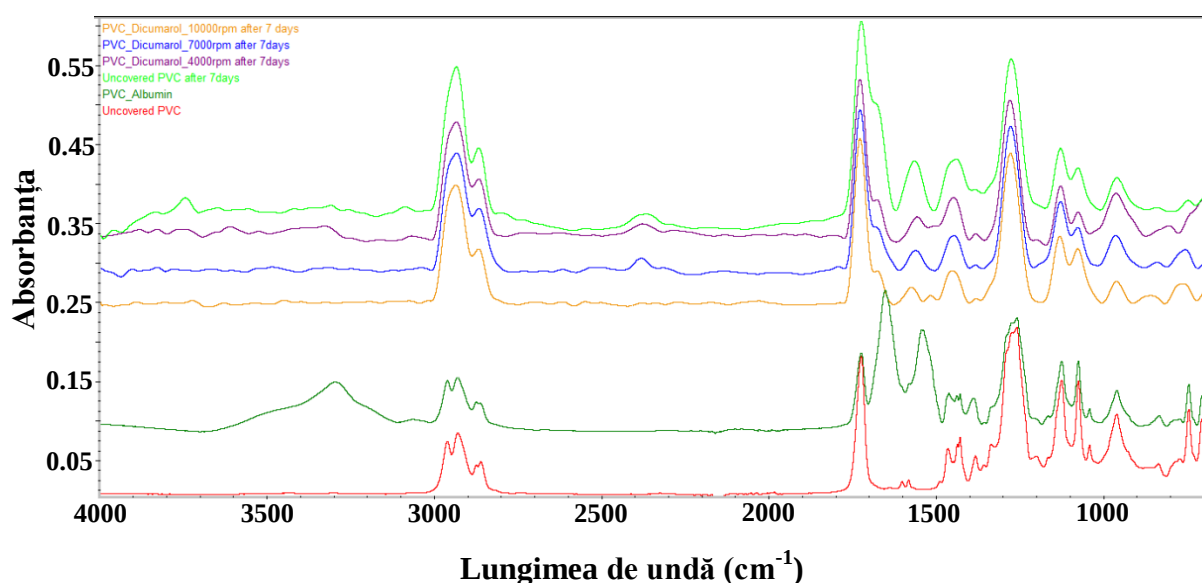


Fig. III-41. Comparația între spectrele filmelor de PVC/dicoumarol după 7 zile de imersie în soluția de SBF/albumină, spectrul PVC neacoperit înainte de imersie și respectiv cel al probei obținute prin drop-cast

Pentru a avea o imagine mai clară a modului în care materialul reacționează atunci când intră în contact cu soluția de albumină, pentru a determina dacă această proteină este adsorbită

pe suprafața materialului, dar și dacă această depunere duce la schimbări ale morfologiei, probele au fost analizate prin microscopie FT-IR (Fig. III-42).

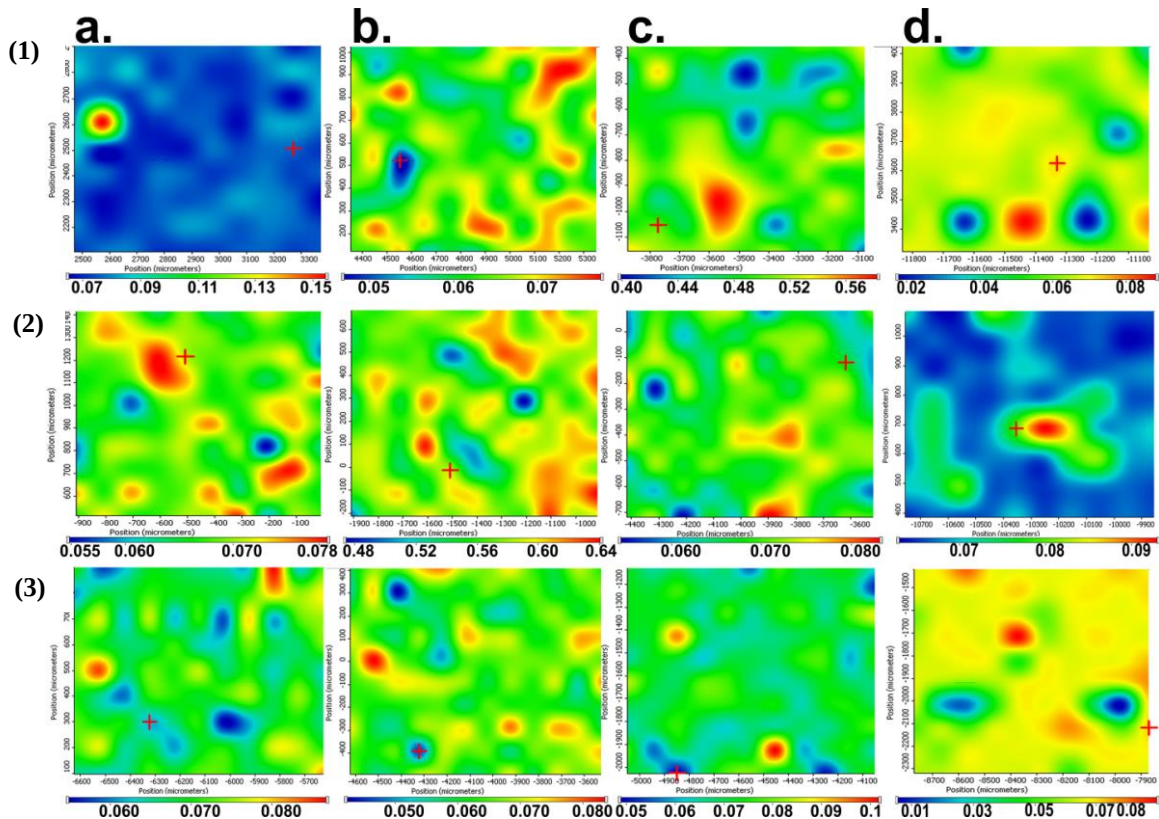


Fig. III-42. Hărțile de contur obținute prin microscopie FT-IR corespunzătoare probelor obținute la 4000 rpm (a), 7000 rpm (b), 10,000 rpm (c) și respectiv a PVC nemodificat (d) după imersie în soluție de SBF/albumină după 7 zile (1), 21 zile (2), and 30 zile (3).

c. Aderența bacteriană

În cadrul acestui studiu s-a examinat rezistența probelor la o tulpină gram-pozitivă (*S. aureus*) și o tulpină gram-negativă (*P. aeruginosa*).

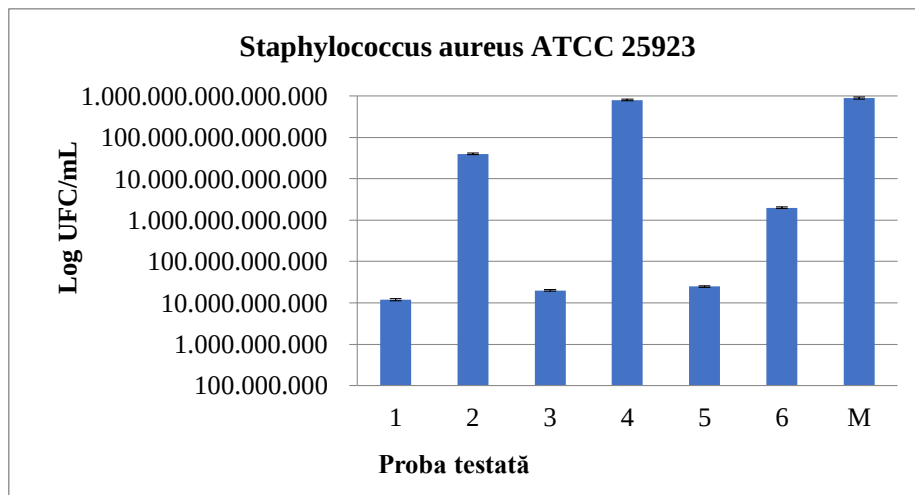


Fig. III-43. Reprezentarea grafică a valorilor UFC/mL pentru tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

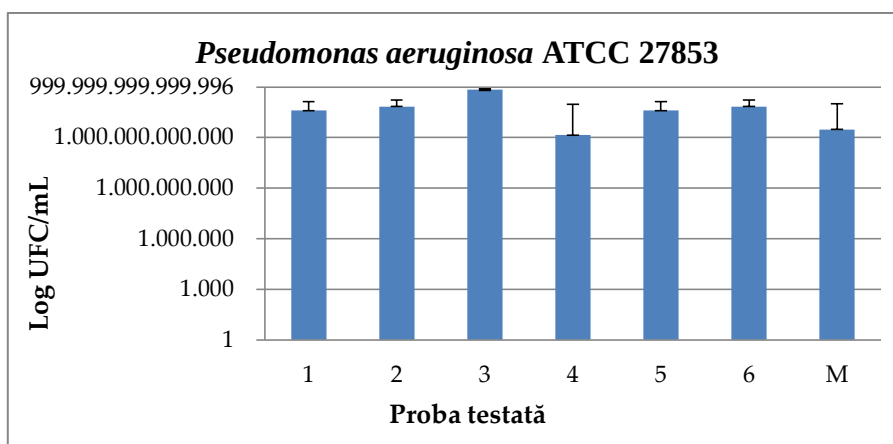


Fig. III-44. Reprezentarea grafică a valorilor UFC/mL pentru tulpina *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

III.5.1.1. Concluzii

Suprafața PVC poate fi modificată cu succes prin metoda spin coating. Probele obținute au fost analizate atât pe suprafața acoperită cât și pe cea neacoperită. Conform microscopiei FT-IR se poate concluziona că morfologia suprafeței este schimbată semnificativ atunci când această metodă de acoperire este aplicată. Suprafața inițială era rugoasă, neuniformă, prezenta defecte de tip “deal-vale” ce au fost acoperite cu filmul polimeric de PVC dopat cu dicoumarol, rezultând o suprafață netedă, uniformă.

După compararea rezultatelor obținute în urma analizelor efectuate pe toate cele trei probe, se poate trage concluzia că cele mai bune rezultate legate de morfologia suprafeței, distribuția dicoumarolului pe suprafață au fost observate pentru proba obținută la 10,000 rpm. De asemenea eliberarea a fost mai lentă și mai constantă în cazul acestei probe și a prezentat o bună abilitate de a preveni depunerea de săruri și de a reduce aderența proteinelor. Metodologia propusă a dus la o activitate îmbunătățită antiaderentă a suprafeței de PVC mai ales împotriva tulpinilor gram-pozitive cum este de exemplu *S. aureus*.

III.5.2. Modificarea suprafeței de pvc prin depunere de nanoparticule de argint pe suprafață

Scopul acestui studiu a fost acela de a modifica suprafața de PVC astfel încât aderența bacteriană să fie cât mai redusă, evitând astfel neplăcerile cauzate de efectele secundare ce apar în urma formării biofilmului.

III.5.2.1. Materiale și metode

Bovine Serum Albumin (Fluka), azotat de argint (Carl Roth), Trisodium Citrate (), probe plane standard de policlorură de vinil și ciclohexanonă (Silal) s-au folosit fără a fi supuse unei purificării. SBF (simulated body fluid) a fost preparat conform modului de lucru descris de Oyane și co. [359]. Probele au fost caracterizate utilizând un microscop de tip Thermo Scientific Nicolet iN10 Infrared Microscope pentru a analiza morfologia suprafeței probelor. Spectroscopul Thermo Fischer Nicolet iN10 Attenuated Total Reflection Infrared a fost utilizat pentru a determina compoziția suprafeței probelor obținute. Analiza de Inductively Coupled Plasma (ICP) a fost realizată pentru a determina gradul de migrare a ionilor de argint de pe suprafață. Microscopia electronică de baleiaj (SEM) a fost utilizată pentru a examina morfologia, microstructura și omogenitatea probelor precum și pentru a vizualiza distribuția nanoparticulelor de argint pe suprafață.

III.5.2.2. Mod de lucru

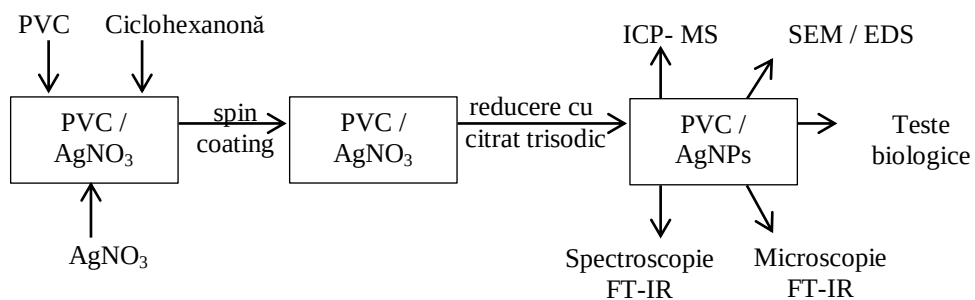


Fig. III-45. Schema de flux tehnologic pentru realizarea depunerii filmului polimeric

Tabelul III-1. Parametri utilizați în cadrul metodei de spin coating

Proba	AgNO ₃	Dispenser	Spread	EBR	Dry
P1 P4 P7 M1	1% 5% 10% -	Acc. spin: 1000rpm Spin time: 5s Spin speed: 100rpm	Spin speed: 500rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 10s	Spin speed: 2000rpm Spin acc.: 100rpm Spin time: 20s	Spin speed: 4000rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 20s
P2 P5 P8 M2	1% 5% 10% -	Acc. spin: 1000rpm Spin time: 5s Spin speed: 100rpm	Spin speed: 500rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 10s	Spin speed: 2000rpm Spin acc.: 100rpm Spin time: 20s	Spin speed: 7000rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 20s
P3 P6 P9 M3	1% 5% 10% -	Acc. spin: 1000rpm Spin time: 5s Spin speed: 100rpm	Spin speed: 500rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 10s	Spin speed: 2000rpm Spin acc.: 100rpm Spin time: 20s	Spin speed: 10000rpm Spin accel: 1000rpm Spin time: 20s

III.5.2.3. Rezultate și discuții

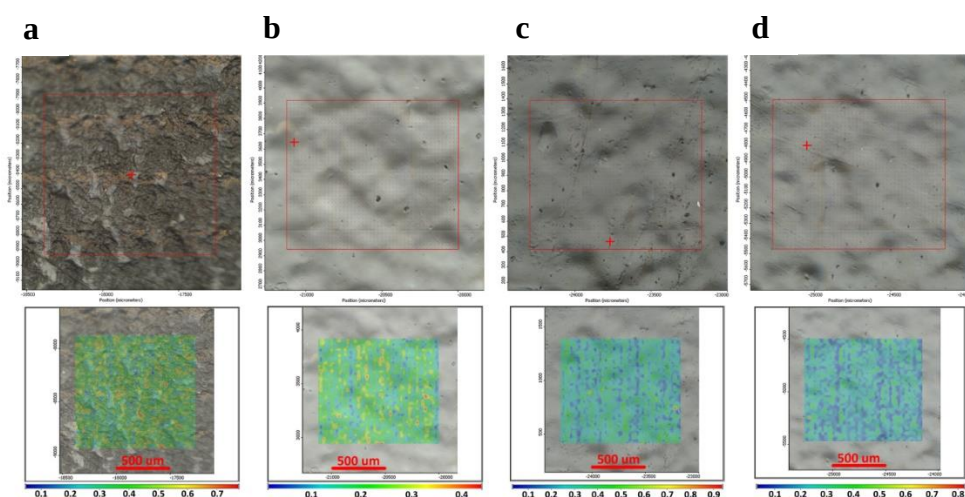


Fig. III-47. Imaginile de microscopie FT-IR corespunzătoare PVC inițial, nemodificat (a) și a probelor M1 (b), M2 (c), M3 (d)

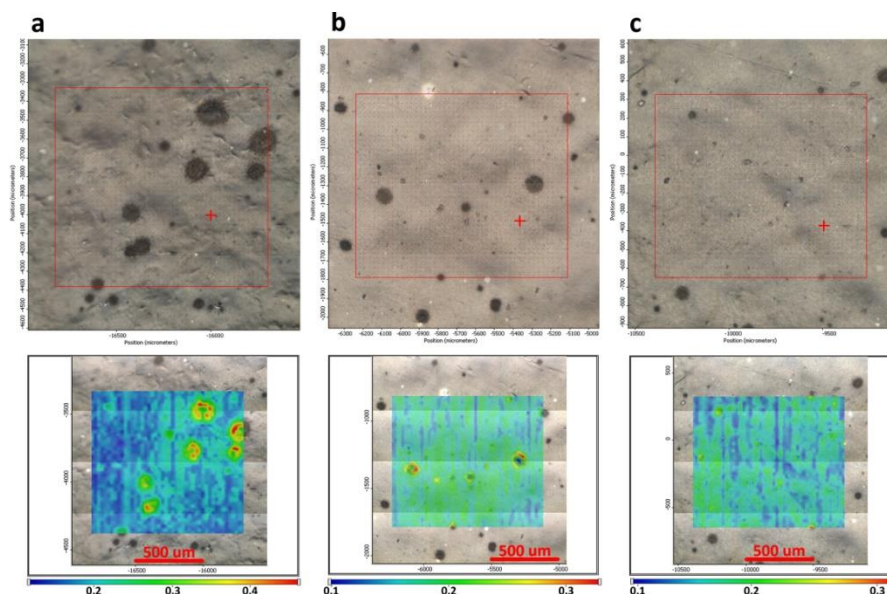


Fig. III-48. Imaginile de microscopie FT-IR corespunzătoare probelor P7(a), P8(b) și respectiv P9(c)

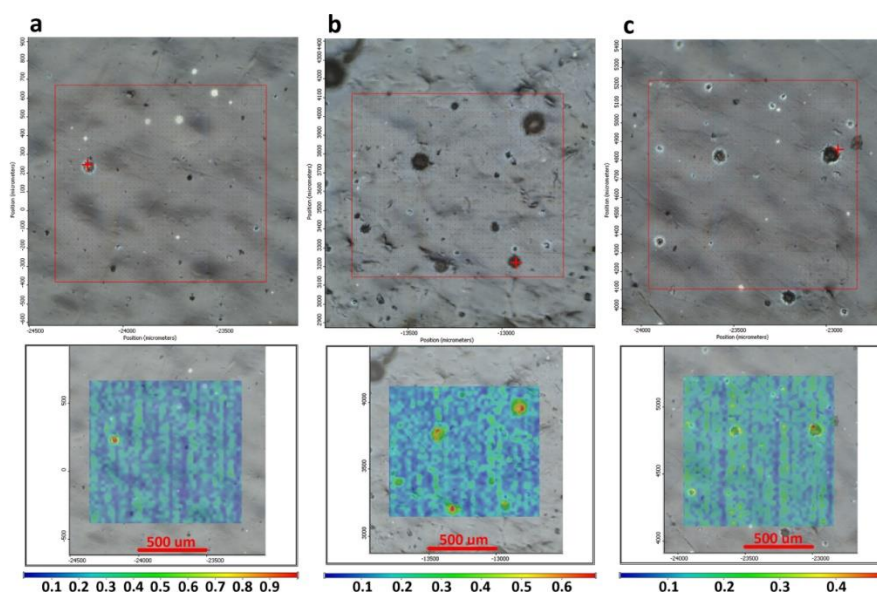


Fig. III-49. Imaginile FT-IR corespunzătoare probelor P7 (a), P8 (b) și P9 (c) după reducere

Prezența nanoparticulelor de argint pe suprafața filmelor depuse prin coating a fost confirmată de analiza SEM (Fig. III-50) care a evidențiat o dispersie uniformă a nanoparticulelor de argint pe suprafață.

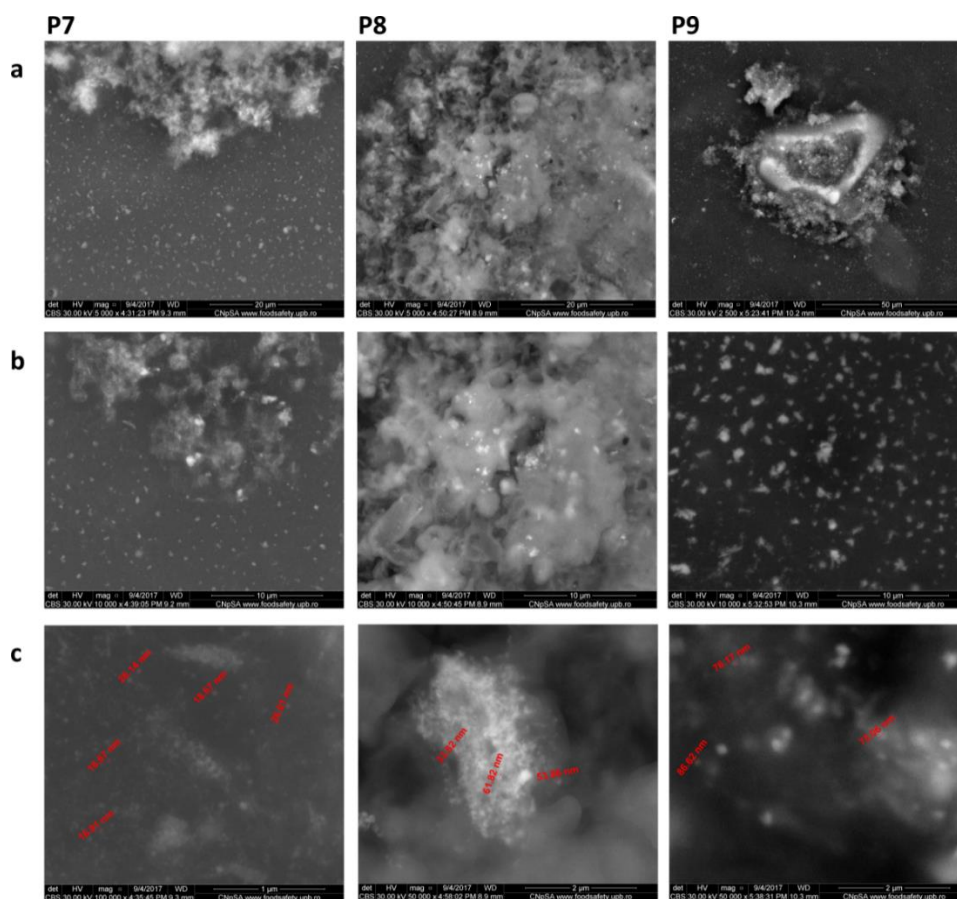


Fig. III-50. Imaginile SEM înregistrate la o mărire de 5000 x (a), 10,000 x (b) și respectiv 50,000 x pentru probele P7, P8, P9

Spectrele EDS realizate pe probele după reducere au confirmat, de asemenea, prezența argintului și relevă diferențe semnificative legate de cantitatea depusă.

a. Eliberarea ionilor de argint

Un aspect foarte important ce trebuie avut în vedere atunci când pentru realizarea dispozitivelor medicale se folosesc acoperiri cu nanoparticule de argint este legat de concentrația de ioni eliberați în fluidele biologice deoarece poate prezenta citotoxicitate la anumite concentrații. Pentru a putea monitoriza comportamentul de migrare a ionilor de argint în organism, probele au fost imersate în SBF cu pH=7.4, menținând temperatura la 36.5 °C, mimând astfel condițiile din corp. Acestea au fost menținute în soluție pentru o perioadă de până la 24 de zile, analizând periodic soluția de SBF (1h, 2h, 6h, 1 zi, 2 zile, 3 zile, 9 zile, 13 zile și respectiv 23 de zile), folosind analiza ICP - MS (Fig. III-52).

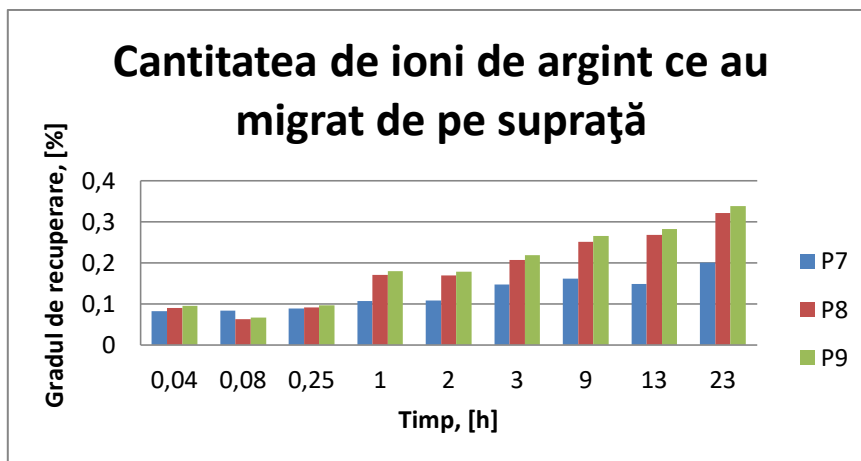


Fig. III-52. Reprezentarea grafică a gradului de recuperare în timp a ionilor de argint din soluția de SBF

b. Aderarea albuminei pe suprafață

Aderarea proteinelor la suprafața materialului poate duce la formarea trombozelor, calcifierilor, aderare bacteriană sau formare de biofilm, ceea ce poate duce la blocarea dispozitivelor tubulare. Pentru a observa comportamentul suprafețelor obținute prin spin coating la interacția cu proteinele din sânge probele au fost imersate într-o soluție de SBF pH=7, la 36.5 °C cu conținut de albumină, principala proteină întâlnită în sânge. Probele au fost menținute în aceste condiții timp de 24 de zile și au fost analizate prin microscopie FT-IR după 1 zi, 6 zile, 14 zile și respectiv 24 de zile.

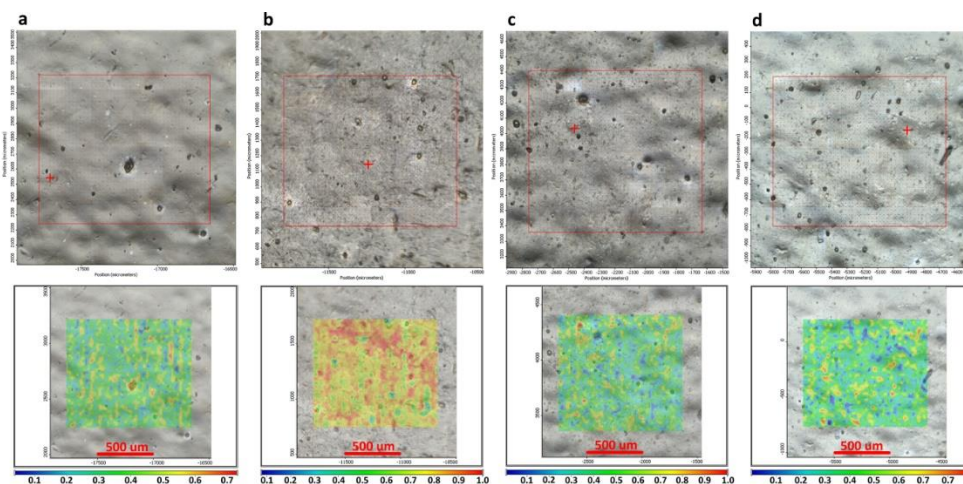


Fig. III-53. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba P7 după a - 1 zi, b - 6 zile, c – 14 zile, d – 24 zile de imersie în soluția de albumină

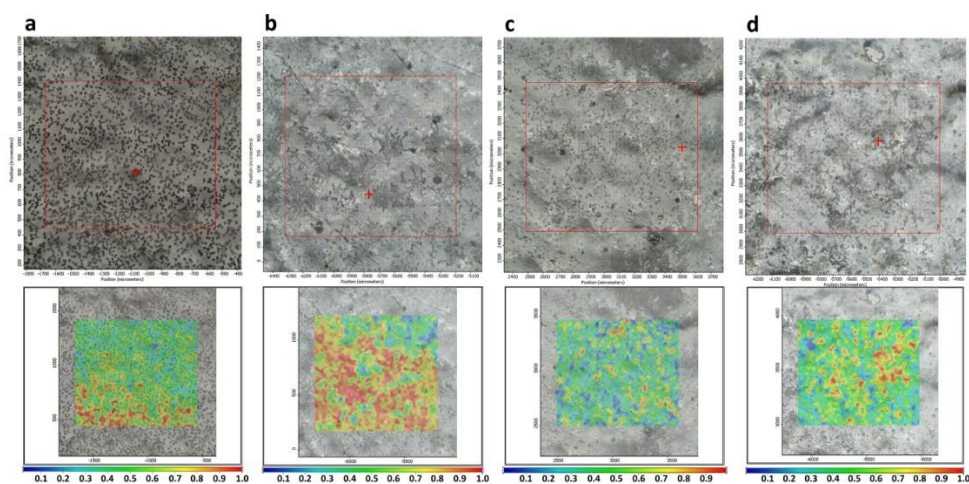


Fig. III-54. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba M1 după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

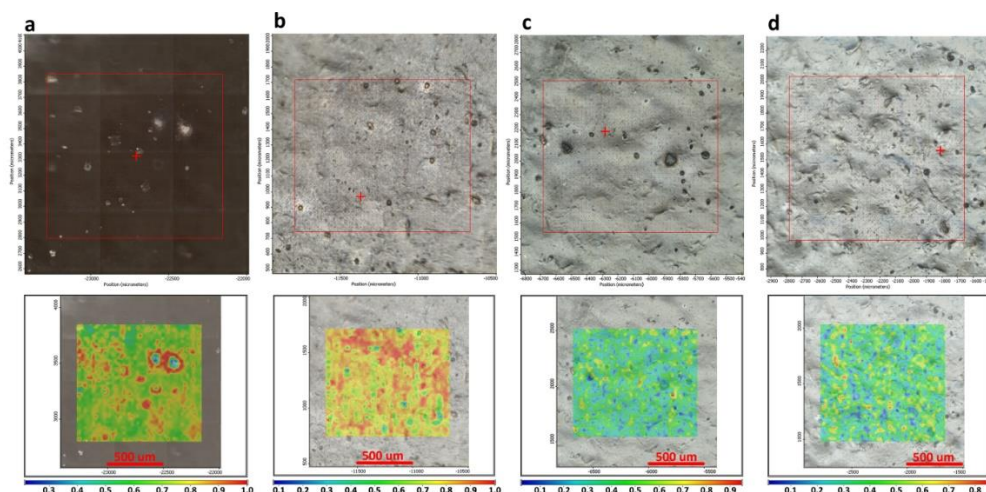


Fig. III-55. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba P8 după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

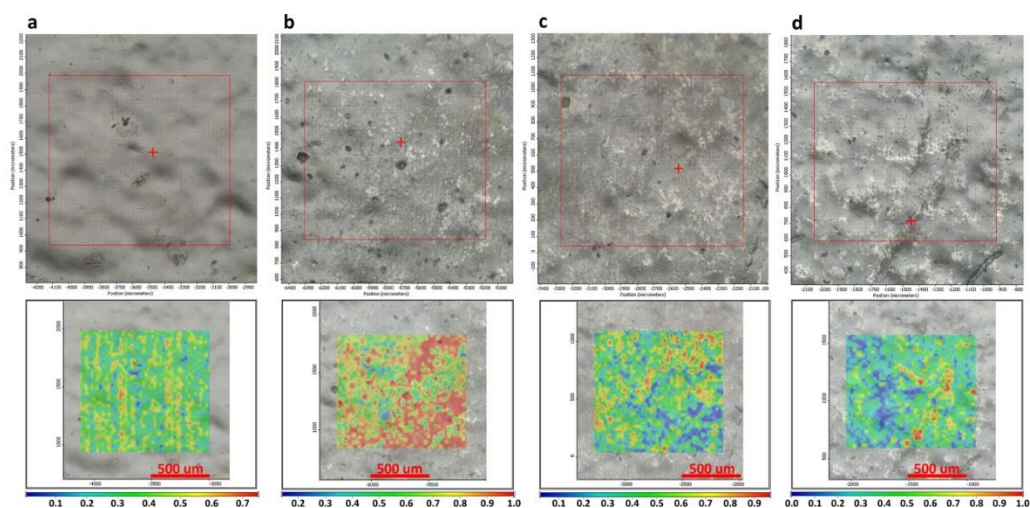


Fig. III-56. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba M2 după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

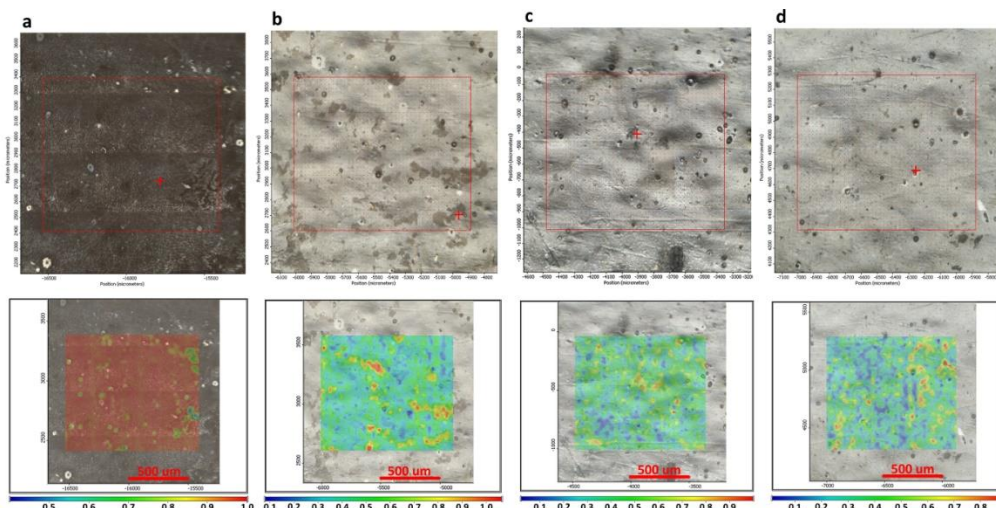


Fig. III-57. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba P9 după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

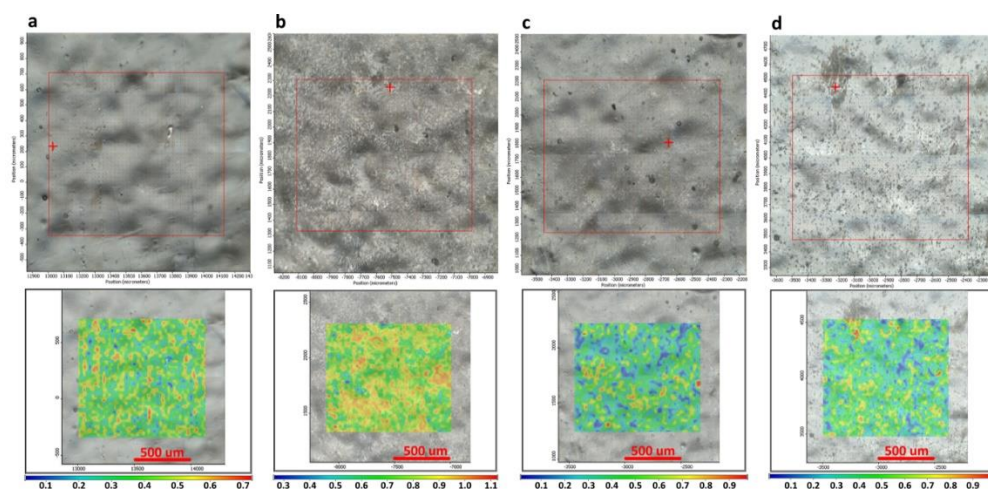


Fig. III-58. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru proba M3 după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

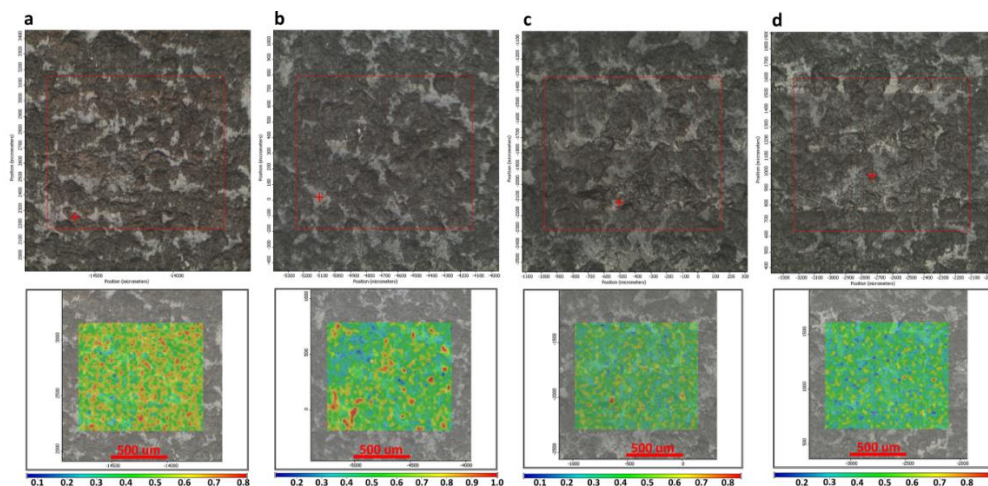


Fig. III-59. Imaginile de microscopie FT-IR obținute pentru PVC inițial după a - 1 zi, b - 6 zile, c - 14 zile, d - 24 zile de imersie în soluția de albumină

Spectrul FT-IR (Fig. III-60) confirmă prezența albuminei pe suprafața probelor prin apariția unor peak-uri suplimentare în urma imersiei în soluția de albumină. Aceste peak-uri apar la lungimi de undă de 1680 cm^{-1} , banda corespunzătoare amidei I, constând în cea mai mare parte din vibrații ale legăturii $\nu(\text{C}=\text{O})$ și la $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$ banda corespunzătoare amidei II, constând în cea mai mare parte din vibrații ale legăturii $\nu(\text{C}-\text{N})$ [387-389].

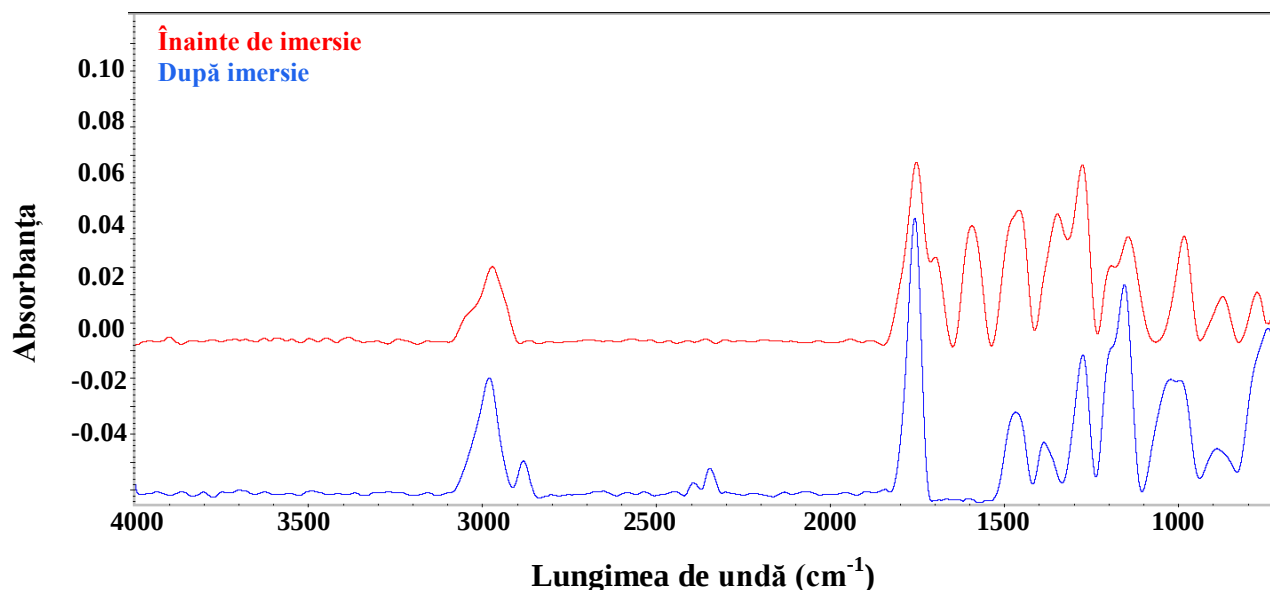


Fig. III-60. Reprezentarea spectrelor FT-IR a suprafeței modificate înainte și după imersie în soluția de albumină

c. Teste biologice

Pentru testarea rezistenței la colonizare a suprafețelor modificate, dar și a celei inițiale, s-a utilizat tulpina bacteriană *S. aureus* ATCC 6538, rezultatele finale fiind exprimate în UFC/ml la diferite intervale de timp de la punerea în contact a acestor suprafețe cu suspensia bacteriană (Fig. III-61).

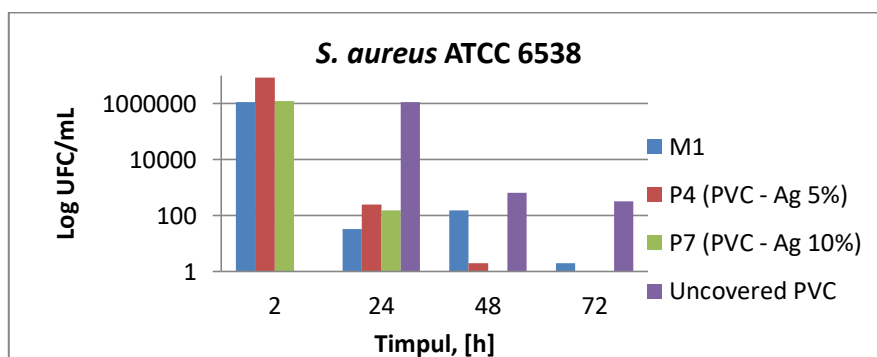


Fig. III-61. Evaluarea cantitativă a gradului de dezvoltare a biofilmului microbial monospecific dezvoltat de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 la suprafața PVC inițial și respectiv modificat prin spin coating.

E. coli reprezintă specia bacteriană cea mai reprezentativă dintre speciile Gram-negative, capabile să dezvolte biofilme, de aceea s-a testat capacitatea probelor de a forma biofilm monospecific la contactul cu tulpina standard *Escherichia coli* ATCC 25922 (Fig. III-62).

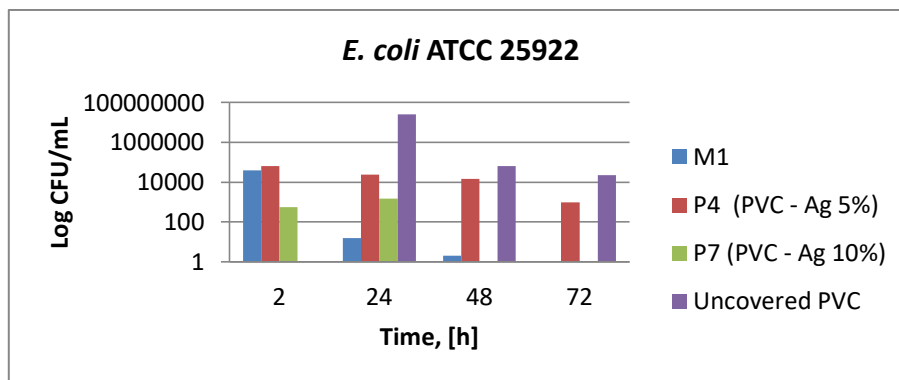


Fig. III-62. Evaluarea cantitativă a gradului de dezvoltare a biofilmului microbial monospecific dezvoltat de *E.coli* ATCC 25922 la suprafața PVC inițial și respectiv modificat prin spin coating

Infecțiile nosocomiale asociate cateterelor venoase sunt frecvent determinate de specii de *Candida*. Inducerea formării biofilmului la suprafața biomaterialelor funcționalizate utilizate în studiul de față a permis evaluarea comportamentului acestora la contactul cu celulele planctonice de *C. albicans* ATCC 26790 (Fig. III-63).

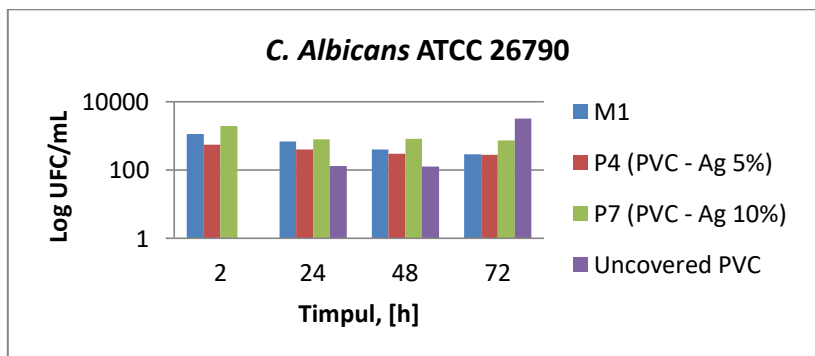


Fig. III-63. Evaluarea cantitativă a gradului de dezvoltare a biofilmului microbial monospecific dezvoltat de *C.albicans* ATCC 26790 la suprafața PVC inițial și respectiv modificat prin spin coating

III.6.EVALUAREA PROPRIETĂȚILOR DATE DE ACOPERIRILE CU OXINITRURĂ DE TITAN (TiO_xN_y) REALIZATE PENTRU OBTINEREA STENTURILOR CARDIOVASCULARE STRATIFICATE

În cadrul acestei lucrări s-au studiat acoperiri de TiO_xN_y cu diferite rapoarte N/O depuse prin tehnologia de pulverizare în magnetron (magnetron sputtering deposition), cu scopul de a determina modul în care sunt influențate proprietățile acestui tip de suprafețe de concentrația de N sau O.

III.6.1. Materiale și metode

Acoperirile de TiO_xN_y studiate au fost depuse atât pe probe plane, sub formă de discuri, cât și pe stenturi din oțel inoxidabil. Acoperirile au fost realizate folosind diverse concentrații de azot (raport O:N = 1:2, 1:5, 1:10). Depunerile au fost realizate prin metoda de pulverizare în magnetron (magnetron sputtering) folosind un sistem UVN-200 MI cu frecvență medie, prin bombardare cu ioni.

Morfologia suprafeței a fost analizată înainte și după expunerea în SBF prin Microscopie Electronică de Baleiaj (SEM) folosind un microscop de tip XL 30 ESEM-FEG

Philips, 3.0 kV. Analiza chimică și elementală a fost realizată prin F-IR și respectiv EDS (Energy-dispersive X-ray spectroscopy). Pentru determinarea hidrofiliei suprafeței, probele plane au fost analizate folosind OCA 20 Contact Angle System. Modul de interacțiune a probelor cu proteinele din sânge a fost studiat prin punerea în contact cu o soluție de albumină. Probele au fost analizate la diferite intervale de timp prin microscopie FT-IR. Biocompatibilitatea acoperirilor obținute a fost analizată folosind Celule endoteliale ale venei ombilicale umane (Human Umbilical Vein Endothelial Cells - HUVEC).

III.6.2. Rezultate și discuții

Probele obținute au fost analizate prin SEM și așa cum se poate observa din Fig. III-63, caracteristicile filmelor obținute diferă în funcție de raportul folosit.

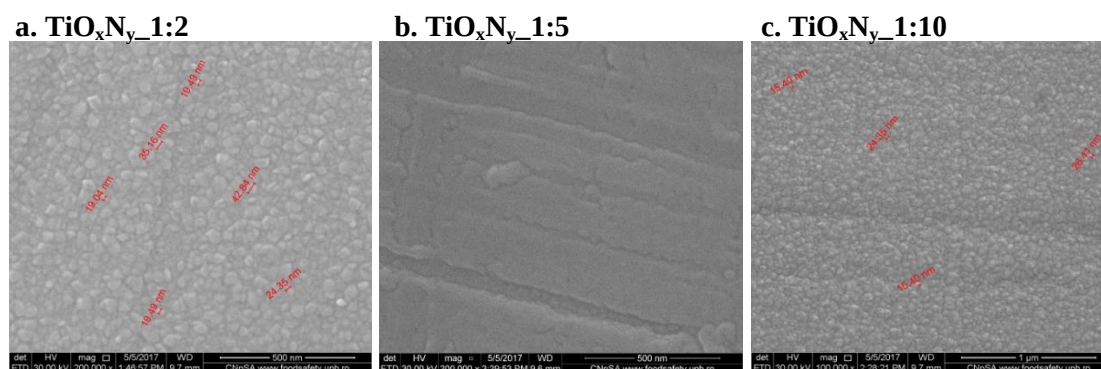


Fig. III-64. Imaginile SEM corespunzătoare probelor TiO_xN_y , la mărimi de 55x (a), 2000x (b) și respectiv 200,000x (c).

Pentru a analiza uniformitatea depunerilor, probele plane au fost analizate prin microscopie FT-IR (Fig. III-65).

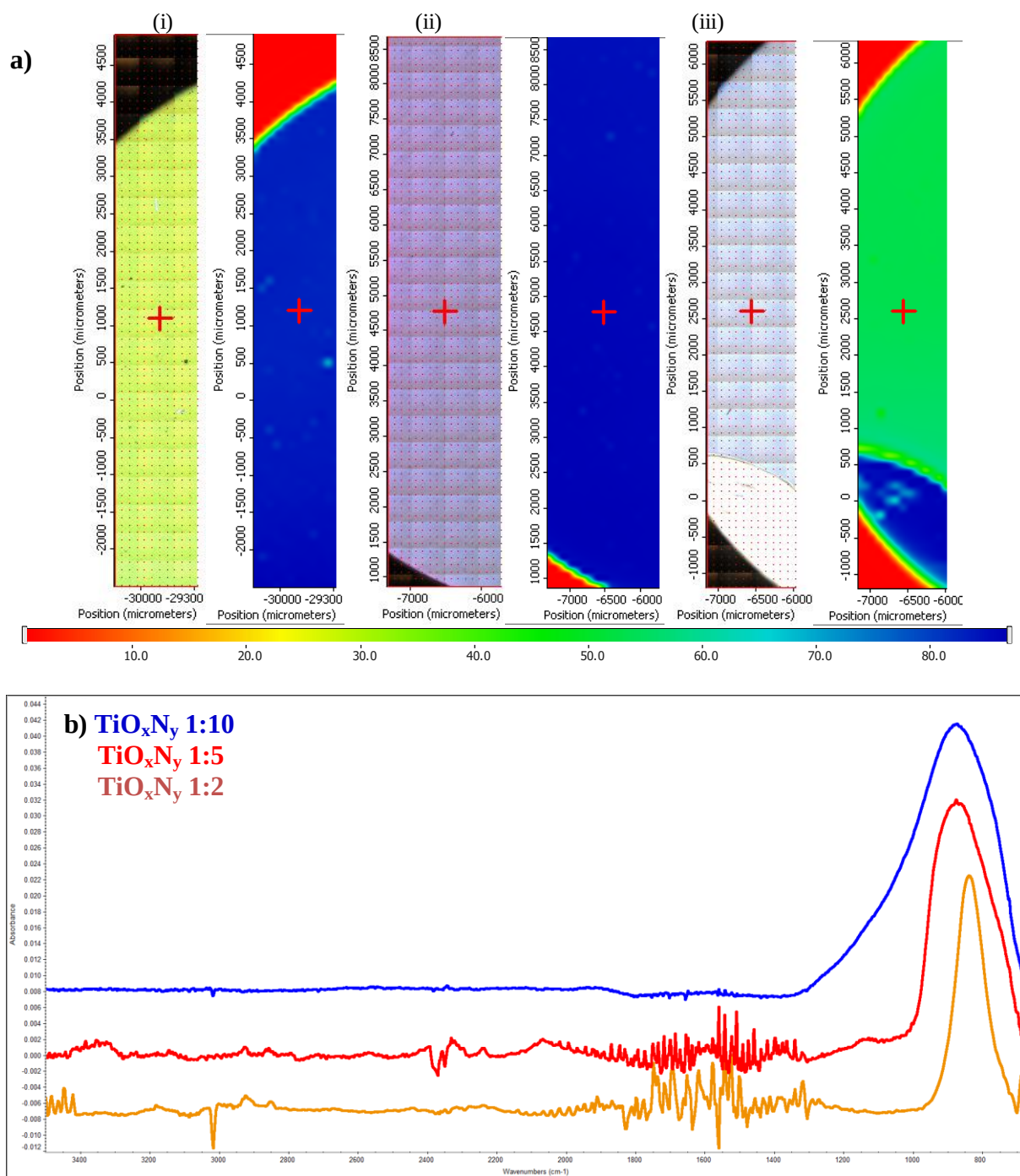


Fig. III-65. Imaginile de microscopie FT-IR corespunzătoare probelor plane acoperite cu TiO_xN_y (a.i – O_2/N_2 1/2; a.ii - O_2/N_2 1/5; a.iii - O_2/N_2 1/10), înregistrate la 840-884 cm^{-1} (b –spectrele FT-IR corespunzătoare celor 3 suprafețe, cu evidențierea peak-ului la care a fost realizată înregistrarea).

Suprafețele stenturilor acoperite cu TiO_xN_y prin metoda de depunere prin pulverizare reactivă în magnetron au fost analizate atât la scară micro cât și nano (Fig.III-66).

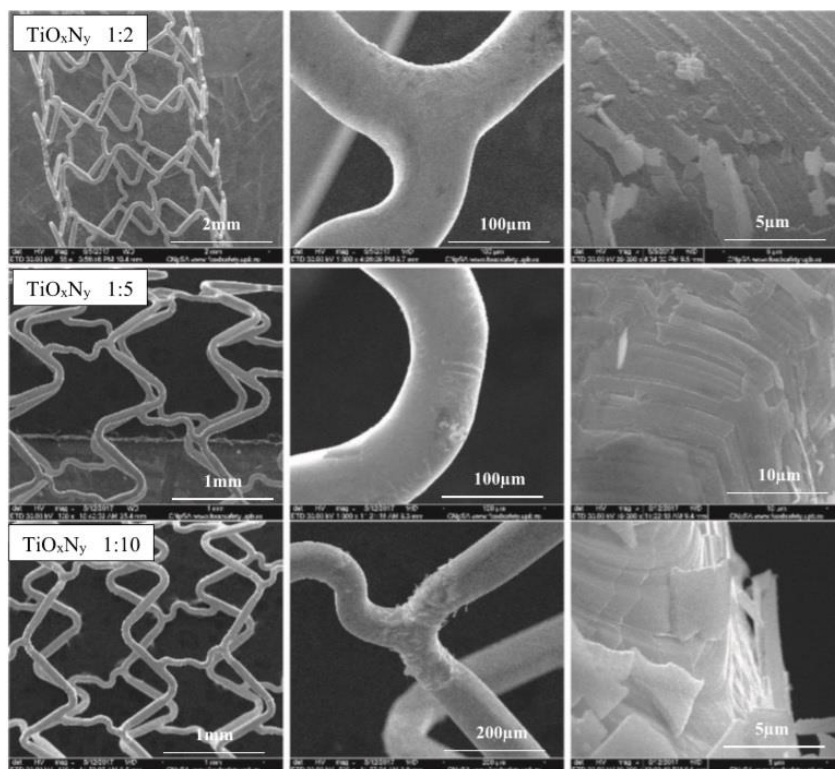


Fig. III-66. Imaginile SEM înregistrate pe suprafața stenturilor modificate prin acoperire cu TiO_xN_y

Deși pe suprafața stenturilor s-au determinat doar suprafețe limitate ce prezintă despinderi, tehnologia de depunere trebuie îmbunătățită deoarece aceste acoperiri vizează fabricarea de stenturi, iar degradarea și desprinderea filmului de pe suprafață trebuie eliminate.

Măsurarea unghiului de contact a fost realizată pe toate probele plane. S-a determinat că toate cele trei acoperiri realizate induc un comportament ușor hidrofob al suprafețelor, unghiul de contact fiind mai mare de 90° . Valoarea determinată a unghiului de contact corespunzător oțelului inoxidabil este de aproximativ 47° și este conform cu valoarea din literatură [398].

III.6.2.1. Stabilitatea in vitro, în SBF

Pentru a determina modul de interacțiune a suprafețelor stenturilor modificate prin acoperire cu TiO_xN_y , probele au fost imersate în soluție de SBF timp de mai multe zile. Imaginile SEM corespunzătoare probelor după 7 zile de imersie în SBF sunt prezentate în Fig. III-67. Pentru a verifica dacă grupările Ti-OH pot întradevăr induce nucleerea și cristalizarea apatitei, dar și pentru a determina natura chimică a precipitatului depus pe suprafața stenturilor după imersie în SBF [400], cartografierea elementală folosind EDS a fost realizată pe probele plane.

Distribuția elementelor pe suprafață este prezentată în Fig. III-67 și confirmă prezența fosfaților, a calciului, magneziului.

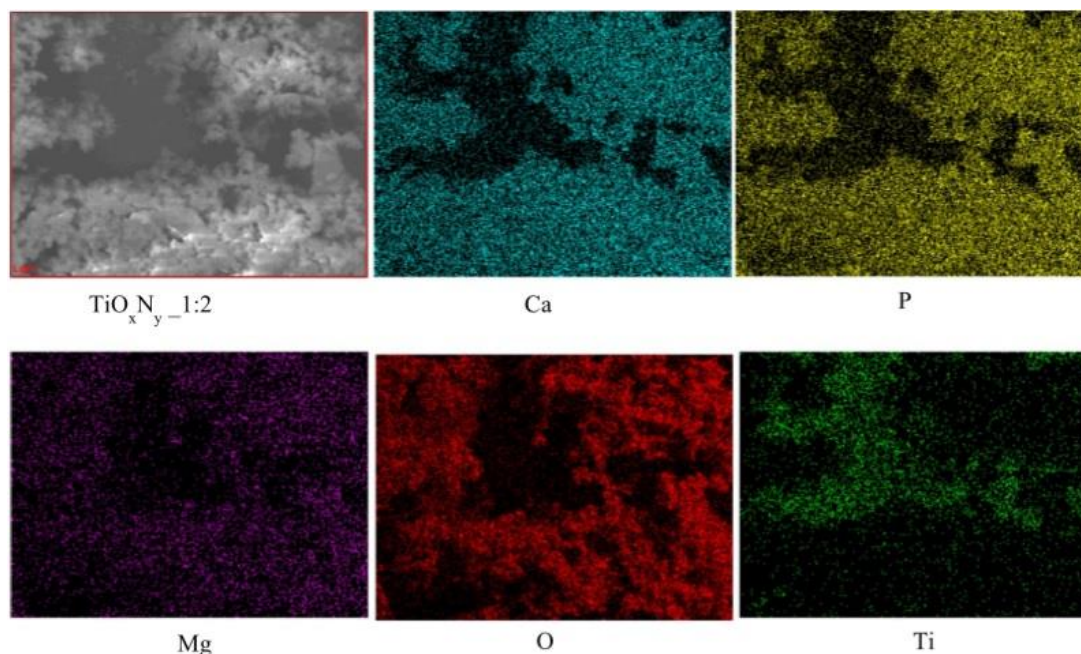


Fig. III-68. Cartografierea elementală a depunerilor de TiO_xN_y după 7 zile de expunere în SBF

III.6.2.2. Adsorbția de proteine (albumină)

Pentru a determina comportamentul probelor în prezența proteinelor din sânge, acestea au fost imersate într-o soluție de albumină în SBF timp de 1, 3, 8, 14 și 28 de zile. Au fost apoi spălate cu grijă cu apă și analizate prin microscopie FT-IR.

După 14 zile adsorbția de albumină a început să fie prezentă și pe suprafața probelor $\text{O}_2/\text{N}_2=1/5$ (Fig. III-73) și $\text{O}_2/\text{N}_2=1/10$ (Fig. III-74). Spectrele corespunzătoare zonelor unde au loc îmbinările sunt diferite de celelalte zone ale stenturilor, deoarece adsorbția de albumină are loc predominant pe zonele în care depunerea de TiO_xN_y s-a desprins. Defectele apărute în urma desprinderii depunerii favorizează ancorarea proteinelor pe suprafață.

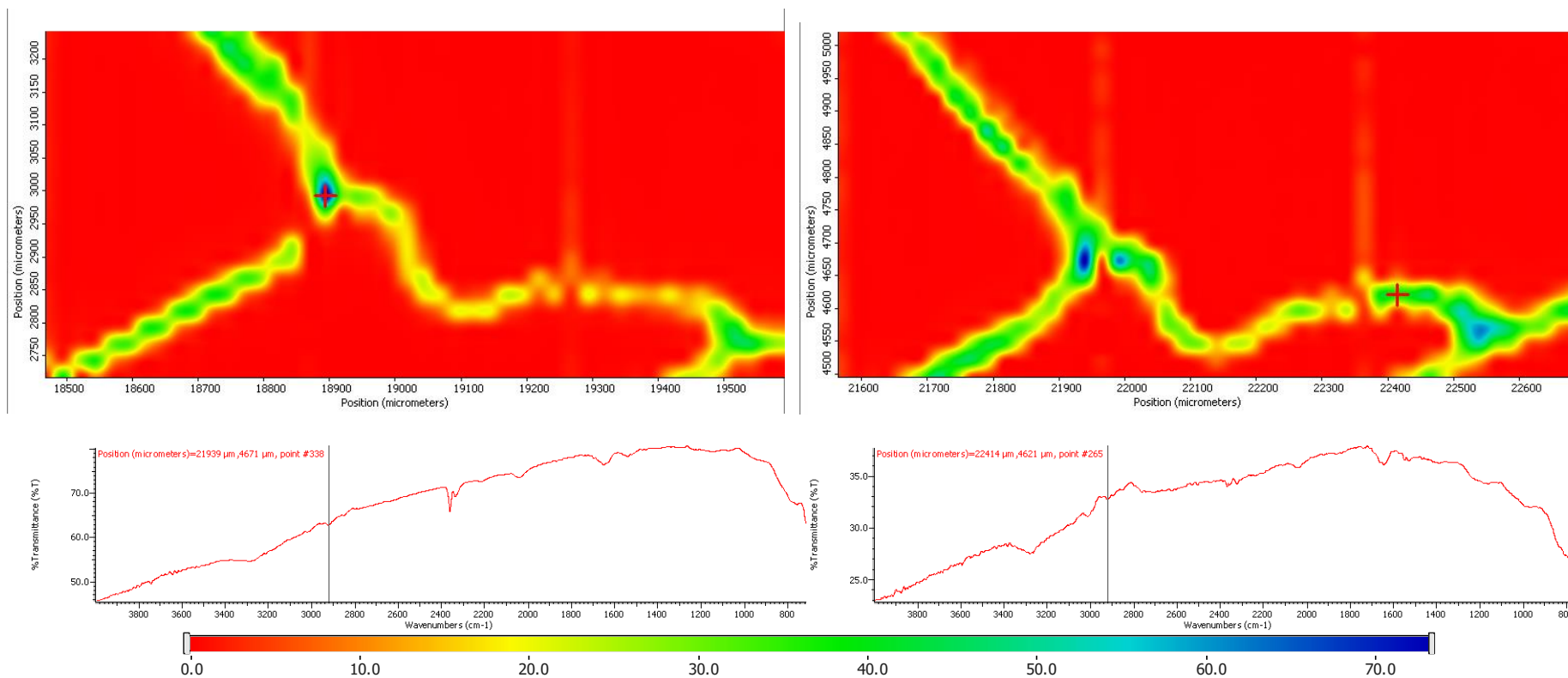


Fig. III-73. Hărțile de contur și spectrele FT-IR corespunzătoare probei $\text{TiO}_x\text{N}_y\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/5$, la locul de îmbinare a firelor din structura stentului dar și pe o altă suprafață a firului, după 14 zile de imersie în albumină.

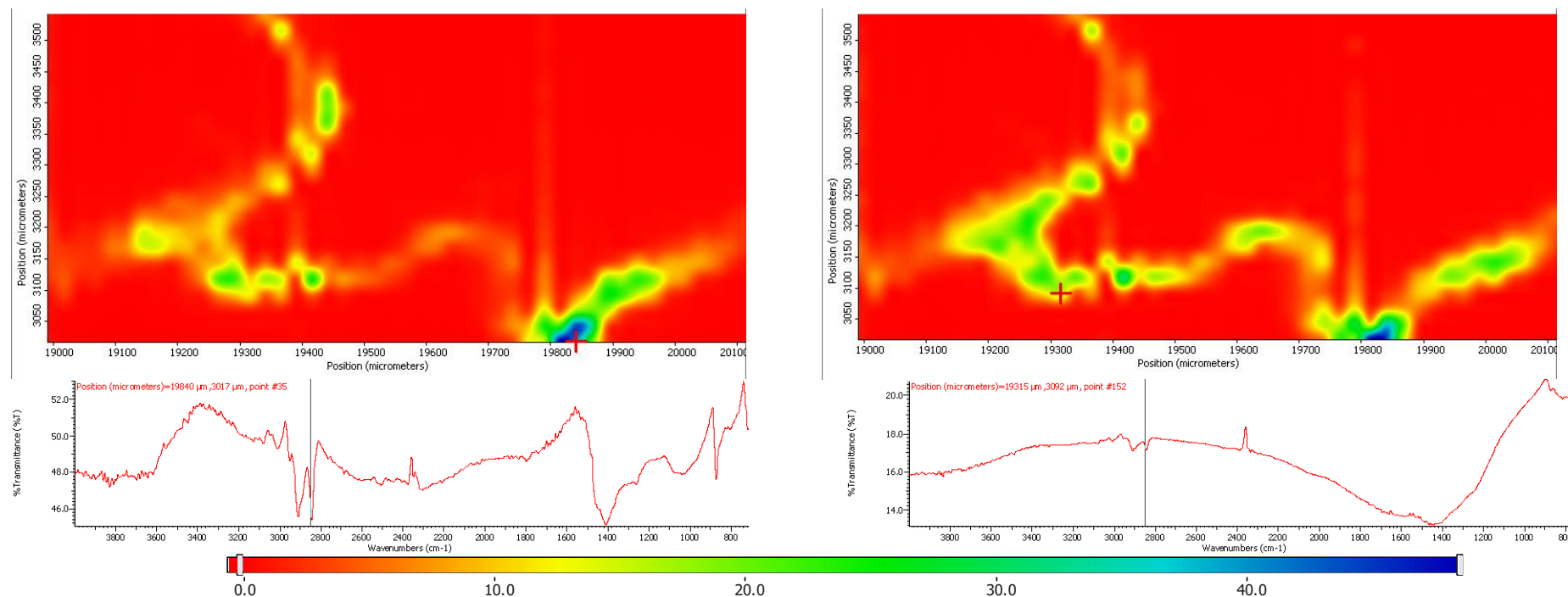


Fig. III-74. Hărțile de contur și spectrele FT-IR corespunzătoare probei TiO_xN_y $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/10$, la locul de îmbinare a firelor din structura stentului dar și pe o altă suprafață a firului, după 14 zile de imersie în albumină.

În urma analizelor realizate, se poate observa că depunerea de TiO_xN_y îmbunătățește proprietățile de inhibare a depunerii de albumină pe suprafața stenturilor din oțel inoxidabil.

III.6.2.3. Analize biologice

Activitatea metabolică a HUVEC după 24 h și respectiv 48 h de incubare pe discurile plane acoperite cu TiO_xN_y a fost comparată cu proba martor de oțel inoxidabil. Deoarece nu s-au observat modificări în activitatea metabolică a celulelor se poate concluziona că acoperirile realizate nu prezintă toxicitate pentru celulele HUVEC (Fig. III-75). După 48 de ore toate probele acoperite cu TiO_xN_y au prezentat o activitate metabolică puțin mai bună comparativ cu proba martor de oțel inoxidabil 316L.

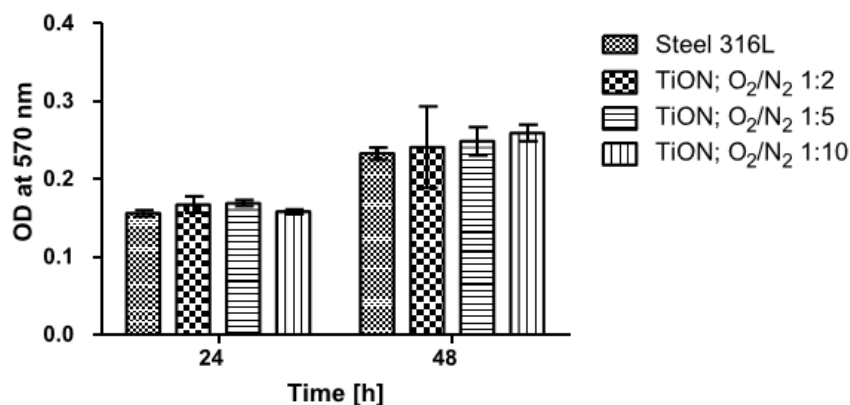


Fig. III-75. Activitatea metabolică a celulelor HUVEC incubate pe probele TiO_xN_y $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/2$, $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/5$, $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/10$ comparativ cu proba martor de oțel inoxidabil.

CONCLUZII

C1. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE

Hidrofilia suprafeței de PVC poate fi îmbunătățită cu succes prin introducerea de grupări esterice pe suprafață prin metode chimice, folosind atât AcOAg cât și LAg. Prezența acestor grupări a fost confirmată prin analizarea probelor obținute prin spectrometrie în infraroșu. În spectrele corespunzătoare suprafețelor modificate se observă apariția benzii corespunzătoare esterului (1516 cm^{-1}) și scăderea intensității benzii corespunzătoare legăturii C-Cl (746 cm^{-1}). Timpul de reacție și randamentul prezintă valori mai bune în cazul reacției cu acetat de argint. Cu cât polimerul este în contact cu solventul pe o perioadă mai mare de timp, cu atât riscul modificării proprietăților PVC este mai mare.

Filmele de PVC rezultate în urma sintezei prezintă rugozități, defecte pe suprafață. Suprafața PVC poate fi modificată fizic prin imersarea într-un solvent adecvat care să nu dizolve polimerul, ci doar să gonfleze suprafața astfel încât denivelările apărute în urma procesului de sinteză să fie îndepărtate și să se obțină o suprafață cât mai netedă. Această modificare a fost realizată cu succes prin imersarea în acetonă și respectiv în soluție apoasă de acetonă 50%.

O altă metodă ce s-a dovedit a fi eficientă pentru a modifica suprafața de PVC fără a modifica proprietățile materialului în masă este metoda de spin coating. Această tehnică a fost folosită în cadrul acestei lucrări pentru depunerea unui film compus de asemenea din PVC, cu scopul de a acoperi defectele de suprafață apărute în urma procesului de sinteză. S-au obținut astfel suprafețe netede, uniforme, cu conținut de principii active ce au efect anticoagulant (dicoumarol și respectiv warfarină), dar și suprafețe având incorporate nanoparticule de argint. Probele de PVC modificat prin depunerea unui film subțire de

PVC/Dicoumarol folosind metoda spin coating au prezentat suprafețe netede, cu o distribuție uniformă a medicamentului. Eliberarea dicoumarolului a avut loc treptat, în timp, pe o perioadă îndelungată, ceea ce înseamnă că materialul rezultat poate prezenta efect anti-trombogenic pe o perioadă de timp suficientă pentru a împiedica coagularea sângelui, formarea trombozelor și astfel a blocării cateterului. Morfologia filmului rezultat în urma depunerii prin spin coating depinde de viteza de rotire în etapa de evaporare. Aderența albuminei are loc pe toate probele studiate, dar prezența dicoumarolului și netezimea suprafeței obținute după efectuarea depunerii la 10,000 rpm au dus la reducere aderenței proteinei. Este important să se menționeze că metodologia propusă a dus la o activitate îmbunătățită antiaderentă a suprafeței de PVC mai ales împotriva tulpinilor gram-pozitive cum este de exemplu *S. aureus*. Rezistența la aderarea bacteriană a fost îmbunătățită prin încorporarea de dicoumarol pe suprafață datorită proprietăților sale antibacteriene și capacității sale de legare a proteinelor.

Suprafața de PVC poate fi modificată cu succes prin depunerea de filme ce încorporează AgNPs. Această depunere poate fi efectuată prin metoda de spin coating la diverși parametrii de lucru. Filmele rezultate sunt suficient de compacte pentru a împiedica migrarea ionilor de argint în fluidele biologice (gradul de recuperare fiind $< 0.4\%$). Dimensiunea nanoparticulelor este cuprinsă între ~ 16 - ~ 27 nm pentru nanoparticulele dispersate și ajung până la ~ 80 nm la nivelul aglomerărilor. Toate probele modificate prin spin coating în cadrul acestei lucrări au prezentat activitate anti-biofilm împotriva tulpinilor *E. coli*, *S. aureus* și *C. albicans*.

În cea de-a doua parte a lucrării au fost studiate proprietățile suprafețelor unor probe din oțel inoxidabil de forma sferică, plane, dar și a unor stenturi realizate din același material, după ce acestea au fost acoperite cu TiO_xN_y . Acoperirea a avut loc prin depunere reactivă prin pulverizare în magnetron folosind un amestec oxigen și azot cu rol de gaz reactiv. S-a observat că în funcție de raportul dintre cele două gaze, proprietățile suprafețelor diferă. Cele mai bune rezultate au fost observate în cazul unui raport de $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/5$ în debitul de alimentare cu gaz, urmat de $\text{O}_2/\text{N}_2 = 1/10$. Aceste probe au prezentat cel mai mic grad de adsorbție de albumină și depuneri minime de săruri datorită expunerii în SBF. Odată cu creșterea conținutului de azot din compoziția suprafeței, scade semnificativ adsorbția de albumină. Morfologia suprafeței este de asemenea influențată de cantitatea de azot, cu cât cantitatea de azot este mai mare, cu atât suprafața este mai netedă. Chiar dacă rezultatele obținute referitor la acest tip de acoperiri sunt promițătoare din punct de vedere al proprietăților suprafețelor, acestea nu prezintă o aderență suficient de bună la substrat astfel încât zonele de la îmbinări să nu prezinte deteriorări atunci când este aplicat un stres mecanic cum este extinderea stentului.

C2. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ

Metodele de modificare a suprafeței de PVC descrise în cadrul acestei teze de doctorat pot fi folosite împreună pentru a obține o suprafață cu proprietăți îmbunătățite, ce poate fi folosită în cadrul aplicațiilor medicale la obținerea de diverse dispozitive medicale. Prin folosirea metodei fizice de modificare, respectiv a unui solvent care să gonfleze polimerul la suprafață, favorizează punerea în contact a legăturilor C-Cl putând astfel fi modificate prin introducerea de grupări esterice ce duc la creșterea hidrofiliei suprafeței. Metoda de spin coating poate fi folosită pentru a încorpora în filmul polimeric atât principii active, cât și nanoparticule de argint, putând astfel obține suprafețe netede, uniforme, cu efect anticoagulant (eliberarea principiului activ având loc lent în cazul dicoumarolului datorită solubilității foarte scăzute în apă), dar și antibacterian. Metoda spin coating nu poate fi aplicată pe dispozitive medicale cum sunt cateterele, dar principiile utilizate pot fi aplicate utilizând o metodă alternativă ce poate mima condițiile de depunere studiate în metoda de spin coating și care poate fi utilizată în cazul dispozitivelor tubulare. Studiul unei astfel de

metode este un obiectiv pentru studii viitoare, iar scopul este dezvoltarea unei metode ce constă în circularea unei soluții (preparate în același mod ca și cea folosită în cadrul acestui studiu) printr-un dispozitiv tubular, utilizând un anumit debit, folosind o pompă peristaltică, astfel încât rezultatele obținute să poată fi reproduse în cazul unor dispozitive cum sunt cateterele.

În ceea ce privește studiul realizat asupra stenturilor se poate spune că acoperirea cu TiO_xN_y este promițătoare, însă trebuie studiată mai în detaliu și îmbunătățită metoda de depunerea a filmului astfel încât defectele ce apar la îmbinări în urma stresului mecanic să fie eliminate. Stabilirea raportului optim între oxigen și azot este de asemenea foarte important, deoarece în funcție de acesta proprietățile și morfologia suprafeței se modifică.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole publicate

1. O. C. Duță, A. Ficăi, D. Ficăi, R. D. Trușcă, E. Grosu, L. M. Ditu, G. Mihăescu, M. C. Chifiriuc, E. Andronescu, *PVC Modification by incorporating silver nanoparticles on the surface*, University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science, 2020, 82 (3), 85-100.
2. O. C. Duta, A. M. Titu, A. Marin, A. Ficăi, D. Ficăi, E. Andronescu, *Surface Modification of Poly(Vinylchloride) for Manufacturing Advanced Catheters*, [Current Medicinal Chemistry](#), 2020, 27(10) ; DOI: [10.2174/0929867327666200227152150](#)
3. N. Beshchasna, M. Saqib, H. Kraskiewicz, Ł. Wasyluk, O. Kuzmin, O. C. Duta, D. Ficăi, Z. Ghizdavet, A. Marin, A. Ficăi, Z. Sun, V. F. Pichugin, J. Opitz, E. Andronescu, *Recent Advances in Manufacturing Innovative Stents*, *Pharmaceutics*, 2020,12, 349; doi:10.3390/pharmaceutics12040349
4. O. C. Duta, M. Maximov, R. Trusca, A. Ficăi, D. Ficăi, C.-I. Ilie, L.-M. Ditu, E. Andronescu, *Advanced Drug-Eluting Poly (Vinyl Chloride) Surfaces Deposited by Spin Coating*, *Medicina* 2019,55, 421; doi:10.3390/medicina55080421
5. N. Beshchasna, A. Y. Kwan Hoa, M. Saqib, H. Kraskiewicz, Ł. Wasyluk, O. Kuzmin, O. C. Duta, D. Ficăi, R. D. Trusca, A. Ficăi, V. F. Pichugin, J. Opitz, E. Andronescu, *Surface evaluation of titanium oxynitride coatings used for developing layered cardiovascular stents*, [Materials Science and Engineering: C](#), 2019, **99**, 405-416; doi: 10.1016/j.msec.2019.01.131

Comunicări științifice

1. O. C. Duta, D. Ficăi, A. Ficăi, E. Andronescu, *Titanium Oxynitride Coatings Deposited By Magnetron Sputtering For Improvement Of Cardiovascular Stent Design*, *Proceedings of the 4th World Congress on New Technologies (NewTech'18)*, 2018, Paper No. ICNFA 112, DOI: 10.11159/icnfa18.112
2. O. C. Duta, D. Ficăi, A. Ficăi, L. M. Ditu, M. C. Chifiruc, E. Grosu, E. Andronescu, *Physical and chemical surface modification of PVC based catheters*, 19th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, 2015.
3. O. C. Duta, E. Andronescu, A. Ficăi, D. Ficăi, C.-I. Ilie, L.-M. Ditu, Elena. Grosu, N. Beshchasna, M. Saqib, H. Kraskiewicz, J. Opitz, Ł. Wasyluk, O. Kuzmin, Z. Ghizdavet, V. F. Pichugin, *Sisteme cu eliberare și vectorizare de principii biologice active, Aplicații ale Chimiei în Nanoștiințe și Ingineria Bionanomaterialelor*, Academia Oamenilor de Știință din România Universitatea Politehnica din București, Centrul Național de Micro și Nanomateriale, 2020.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [1]. P.K. J. Curtis, A comparative assessment of three common catheter materials. Dow Corning Corporation. (Form no. 52-1116-01).
- [2]. A.R. Y.L. Ong, G. Georgiu, M. Sharma, Adhesion forces between E. coli bacteria and biomaterial surfaces. *Langmuir*. **15**(8), 1999 p. 2719-2725.
- [3]. M.P. M. Sowe, I. Kuritka, T. Sedlacek, M. Merchan, Analysis of antibacterial action of polyvinyl chloride surface modified with gentian violet. *Int. J. Polym. Anal. Charact.* **14**, 2009 p. 678-685.
- [4]. F.R. F. Borges, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Curr. Med. Chem.* **12**(8), 2005 p. 887-916.
- [5]. C.T. M. J. Matos, Y. Perez-Castillo, E. Uriarte, L. Santana, D. Vina, Synthesis and study of a series of 3-aryl coumarins as potent and selective monoamine oxidase B inhibitors. *J. Med. Chem.* **54**, 2011 p. 7127-7137.
- [12]. J. Iqbal, J. Gunn, and P.W. Serruys, Coronary stents: historical development, current status and future directions. *British Medical Bulletin*. **106**, 2013 p. 193-211.
- [13]. B. Tomberli, A. Mattesini, G.I. Baldereschi, and C.D. Mario, A Brief History of Coronary Artery Stents *Revista Española de Cardiología (English Edition)* **71**(5), 2018 p. 312-319.
- [14]. S. Borhani, S. Hassanajili, S.H.A. Tafti, and S. Rabbani, Cardiovascular stents: overview, evolution, and next generation. *Prog Biomater.* **7**, 2018 p. 175-205.
- [15]. M. Mosseri, H.I. Miller, I. Tamari, M. Plich, Y. Hasin, M. Brizines, A. Frimerman, J. Jefary, V. Guetta, M. Solomon, and C. Lotan, The Titanium-NO Stent: results of a multicenter registry. *EuroIntervention*. **2**, 2006 p. 192-196.
- [349]. S.I. K. M. Khan, M. A. Lodhi, G. M. Maharvi, Zia-Ullah, M. I. Choudhary, Atta-ur-Rahman, S. Perveen, Biscoumarin: new class of urease inhibitors; economical synthesis and activity. *Bioorg. & Med. Chem.* **12**, 2004 p. 1963-1968.
- [352]. M. Prabhakar, EDTA-catalyzed fast and efficient eco-friendly synthesis of dicoumarol derivatives in water. *J. Chem. and Pharm. Res.* **5**(5), 2013 p. 89-93.
- [353]. W.F.T. E. Bush, High-yield synthesis of warfarin and its phenolic metabolites: new compounds. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **72**(7), 1983.
- [387]. H.A. Alhazmi, FT-IR Spectroscopy for the Identification of Binding Sites and Measurements of the Binding Interactions of Important Metal Ions with Bovine Serum Albumin. *Sci. Pharm.* **87**(5), 2019.
- [388]. Y.M.C. JOZE GRDADOLNIK, Bovine Serum Albumin Observed by Infrared Spectrometry. I. Methodology, Structural Investigation, and Water Uptake. *Biopolymers*. **62**(1), 2000 p. 40-53.
- [389]. O.V.S. K V Abrosimova, S V Paston, FTIR study of secondary structure of bovine serum albumin and ovalbumin in *18th International Conference Physica.SPb.* 2016, Journal of Physics: Conference Series.
- [398]. H. Yao, J. Li, N. Li, K. Wang, X. Li, and J. Wang, Surface Modification of Cardiovascular Stent Material 316L SS with Estradiol-Loaded Poly (trimethylene carbonate) Film for Better Biocompatibility Polymers. **9**(11), 2017 p. 598.
- [400]. B. Čolović, B. Todorović-Marković, Z. Marković, D. Marković, M. Plavšić, and V. Jakanović, Nucleation of calcium hydroxyapatite thin films from simulated body fluid. *Surface Engineering* **26**(7), 2010.